

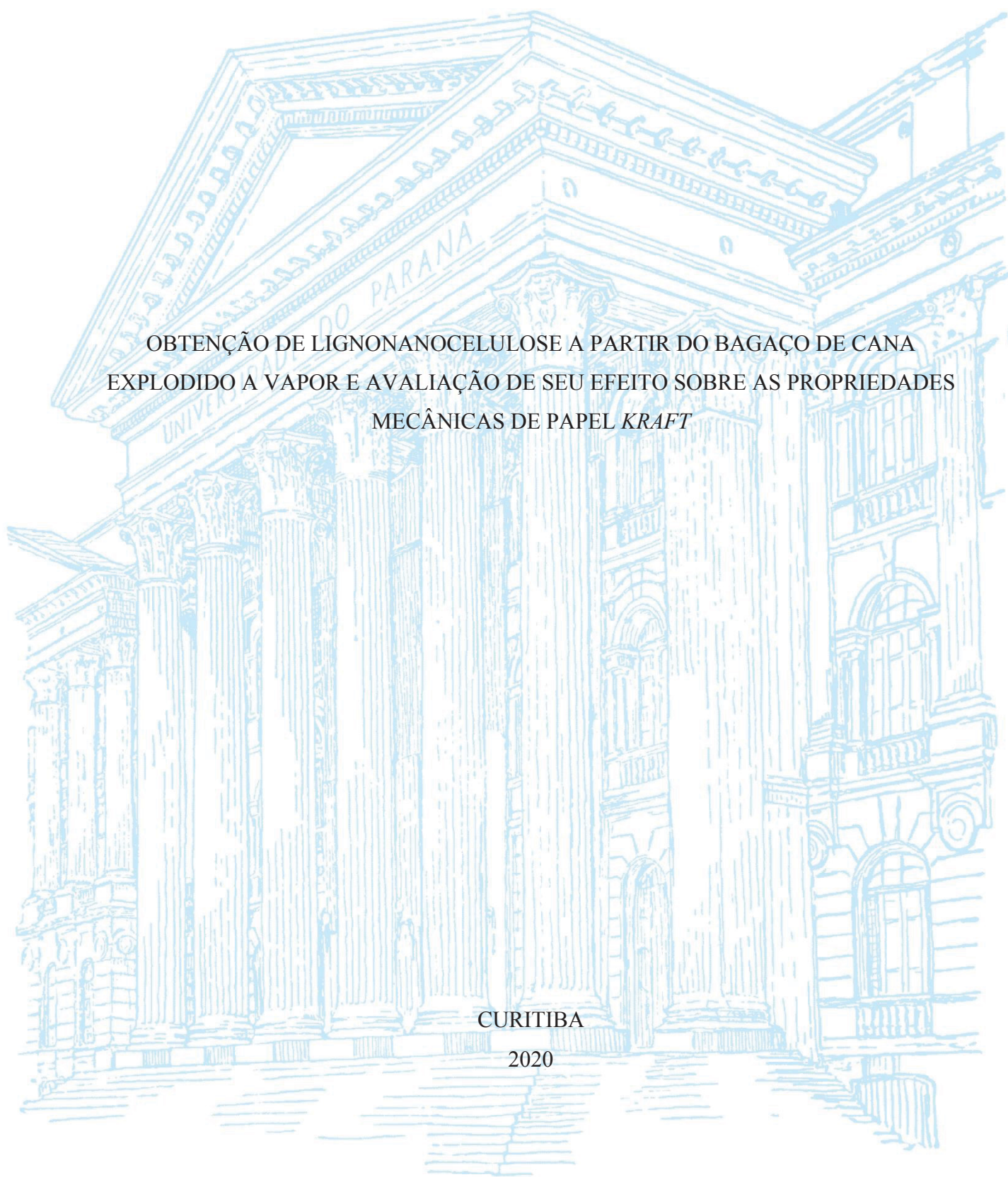
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANDRE MAZEGA FONTES

OBTENÇÃO DE LIGNONANOCELULOSE A PARTIR DO BAGAÇO DE CANA  
EXPLODIDO A VAPOR E AVALIAÇÃO DE SEU EFEITO SOBRE AS PROPRIEDADES  
MECÂNICAS DE PAPEL *KRAFT*

CURITIBA

2020



ANDRE MAZEGA FONTES

OBTENÇÃO DE LIGNONANOCELULOSE A PARTIR DO BAGAÇO DE CANA  
EXPLODIDO A VAPOR E AVALIAÇÃO DE SEU EFEITO SOBRE AS PROPRIEDADES  
MECÂNICAS DE PAPEL *KRAFT*

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em  
Química, Setor de Exatas, Universidade Federal do  
Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de  
Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Pereira Ramos

CURITIBA

2020

CATALOGAÇÃO NA FONTE – SIBI/UFPR

---

M476f                      Mazega, André

Fontes obtenção de lignonanolulose a partir do bagaço de cana explodido a vapor e avaliação de seu efeito sobre as propriedades mecânicas de papel kraft [recurso eletrônico]/ André Mazega. Curitiba, 2020.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química, Setor de Exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química  
Orientador: Prof. Dr. Luiz Pereira Ramos

1. Celulose – química. 2. Cana-de-açúcar. I. Ramos, Luiz Pereira. II. Título. IV. Universidade Federal do Paraná.

CDD 572.56682

---

Bibliotecária: Vilma Machado CRB9/1563



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA -  
40001016026P2

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **ANDRÉ MAZEGA FONTES** intitulada: **OBTENÇÃO DE LIGNONANOCELULOSE A PARTIR DO BAGAÇO DE CANA EXPLODIDO A VAPOR E AVALIAÇÃO DE SEU EFEITO SOBRE AS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE PAPEL KRAFT**, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 31 de Março de 2020.

Assinatura Eletrônica

25/11/2020 16:38:55.0

LUIZ PEREIRA RAMOS

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

25/11/2020 16:58:33.0

MARCELO GONÇALVES MONTES D'OCA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

01/12/2020 15:33:07.0

GRACIELA INES BOLZON DE MUNIZ

Avaliador Externo (Membro Externo)

---

CENTRO POLITÉCNICO - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531-990 - Tel: (41) 3361-3006 - E-mail: [cpgquim@ufpr.br](mailto:cpgquim@ufpr.br)

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 63671

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>  
e insira o código 63671

*A minha família, amigos e minha namorada, que de forma direta  
ou indireta me deram sempre apoio.*



## **AGRADECIMENTOS**

A toda minha família, amigos sempre me ajudaram de forma direta e indiretamente.

Ao meu orientador, Professor Dr. Luiz Pereira Ramos, pela amizade, apoio e valiosos ensinamentos, muita paciência e orientação que me proporcionaram grande crescimento e me mostraram o quanto ainda tenho a crescer – eu agradeço sinceramente e muito pela oportunidade a mim cedida.

A todos os colaboradores do projeto, pelo incentivo, discussão e apoio na obtenção e interpretação dos resultados, principalmente aos amigos Gustavo Tanobe, Giuliana Pavanelli e Maria Juliane Suota.

A oportunidade de realizar dois períodos na Espanha cedida a mim pelo CYTED, por meio da Rede Nanocelia, que enriqueceram grandiosamente meus experimentos e resultados.

Ao Prof. Dr. Marc Delgado e seu grupo de pesquisa da Universidade de Girona na Espanha, no grupo LEPAMAP, por ter me aceito e me orientado durante dois períodos em minha dissertação de mestrado.

A todos os colegas do CEPESQ e departamento de química pelas conversas, discussões e qualquer ajuda que tenham me dado.

Aos professores Rilton Alves de Freitas, Ronilson Vasconcelos Barbosa e Izabel Riegel Vidotti, pelo auxílio com os experimentos de reologia e valiosas discussões que enriqueceram o trabalho durante a revisão do relatório anual e do exame de qualificação.

Aos professores, Graciela Ines Bolzon de Muniz e Marcelo Gonçalves Montes D'Oca por terem aceitado o convite para avaliar o meu trabalho.

À CAPES e ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado sem a qual não seria possível a realização desse trabalho.

À Universidade Federal do Paraná e ao Departamento de Química, pela oportunidade e o privilégio de estudar em uma das melhores universidades do país e em um curso muito bem conceituado.

*“Education is not the learning of several facts, but  
the training of the mind to think.”*

*Albert Einstein*

## RESUMO

Recentemente, vários trabalhos têm buscado otimizar a obtenção de lignonanoceluloses (LNC) a partir de resíduos agroindustriais, por esses reduzirem substancialmente o seu custo de produção. No Brasil, o bagaço de cana-de-açúcar se destaca entre esses resíduos, principalmente por ser o principal coproduto da produção de etanol de primeira geração (etanol sacarínico). Na literatura, poucos trabalhos têm sido dedicados à exploração da explosão a vapor como técnica de obtenção de nanoceluloses (NC) a partir do bagaço de cana. Já seu uso para a obtenção de LNC não foi identificado em nossa revisão bibliográfica. Assim, devido sua aparente originalidade, o presente trabalho foi desenvolvido para avaliar o potencial da explosão a vapor, seguida de técnicas de deslignificação parcial, hidrólise enzimática e tratamento mecânico, para a produção de LNC a partir do bagaço de cana. Para isso, dois grupos de bagaço de cana foram pré-tratados a 195 °C por tempos de residência de 7,5 min (SE-7,5') e 15 min (SE-15') no reator de alta pressão. Todos os bagaços foram inicialmente deslignificados com solução de NaOH 0,3 mol L<sup>-1</sup> a 80 °C por 60 min. A seguir, cada um deles foi dividido em duas partes que foram branqueadas com NaOCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> a 80 °C, uma por 60 min (SE-7,5'-60' e SE-15'-60') e outra por 180 min (SE-7,5'-180' e SE-15'-180'). Todas essas amostras foram então pré-hidrolizadas enzimaticamente utilizando uma endoglucanase comercial (Novozymes®), seguidas por tratamento mecânico envolvendo 9 passagens em homogeneizador de alta pressão. Para comparação e controle, o mesmo bagaço de cana também foi pré-tratado apenas pelo processo mecânico (MRB) seguido de deslignificação e homogeneização por alta pressão nas mesmas condições que os materiais explodidos a vapor, resultando no grupo MRB-B. Todos esses materiais foram caracterizados em relação à composição química de acordo com a metodologia descrita pela NREL. Os bagaços obtidos após todos os esses tratamentos foram caracterizados em relação à demanda catiônica, comportamento reológico, morfologia (por microscopia eletrônica de transmissão) e cristalinidade (por difração de raios-X). Quanto aos teores de glucanas (majoritariamente celulose), hemiceluloses e lignina, foram encontrados: 53,8%, 19,7% e 11,6% no grupo MRB-B; 87,8%, <0,1% e 7,2% no grupo SE-7,5-60'; 84,3%, <0,1% e 4,8% no grupo SE-7,5-180'; 85,9%, <0,1% e 8,4% no grupo SE-15-60'; e 82,2%, <0,1% e 5% no grupo SE-15-180', respectivamente. De acordo com análises reológicas e microscópicas, todos os grupos atingiram tamanhos nanométricos (diâmetro médio inferior a 100 nm e razão de aspecto superior a 50) para classificação como nanocelulose. Os grupos MRB-B e SE-15' apresentaram os menores valores de diâmetro (<20 nm), enquanto os do grupo SE-7,5' foram superiores a 50 nm. Os valores de razão de aspecto e índice de cristalinidade apresentaram semelhança entre todos os grupos (~100 e ~73%, respectivamente), com exceção do grupo SE-15'-180' (~78,5 e 77%, respectivamente), devido a copresença de nanofibras de menor comprimento que foram classificadas por microscopia como celulose nanocristalina. Ainda foram encontradas no grupo SE-7,5'-60' não somente a presença de nanofibras, mas também de nanopartículas esféricas de lignina. Em comparação com a literatura, verificou-se que a técnica de explosão a vapor diminuiu a drasticidade do processo mecânico necessário para atingir a escala de nanofibras e gerou aumentos maiores de índice de cristalinidade. Essas LNC foram então incorporadas como agentes de reforço em folhas de papel *kraf* de *Eucalyptus* sp., cujas propriedades foram caracterizadas por ensaios de tração, estouro e rasgo. Houve melhora no índice de tração para os grupos MRB-B (22,9% para 3%), SE-7,5'-60' (16,6% para 3%) e SE-15'-60' (12,8% para 1%) e em rasgo para SE-15'-180' (13,6% para 5%) e sem melhora para estouro. No entanto, contrariamente a outros estudos, todas as folhas tiveram massa final semelhante e não foi necessário adicionar compatibilizantes.

**Palavras chave:** Nanocelulose, lignina, lignonanocelulose, explosão a vapor, bagaço de cana-de-açúcar, homogeneização por alta pressão.



## ABSTRACT

Recently, several studies have sought to optimize the production of lignonanocelluloses (LNC) from agro-industrial residues as these sources substantially reduce their production cost. In Brazil, sugarcane bagasse stands out among other residues because it is the main co-product of ethanol production from sugarcane juice and/or molasses (first-generation ethanol). In the literature, few studies have been dedicated to the exploitation of the steam explosion as a technique for obtaining nanocelluloses (NC) from sugarcane bagasse. Its use for obtaining LNC was not identified in our literature review. Thus, due to its apparent originality, the present work was developed to evaluate the potential of steam explosion, followed by partial delignification techniques, enzymatic hydrolysis and mechanical treatment, for the production of LNC from sugarcane bagasse. For this, two groups of sugarcane bagasse were pretreated at 195 °C for two different residence times, 7.5 min (SE-7.5') and 15 min (SE-15') in a batch steam explosion reactor. All substrates were initially delignified with 0.3 mol L<sup>-1</sup> NaOH solution at 80 °C for 60 min. Then, each batch was divided into two parts that were bleached with 0.05 mol L<sup>-1</sup> NaOCl at 80 °C, one for 60 min (SE-7.5'-60' and SE-15'-60') and another for 180 min (SE-7.5'-180' and SE-15'-180'). All of these samples were pre-hydrolyzed enzymatically using a commercial endoglucanase (Novozymes), followed by mechanical treatment involving 9 passages through a high-pressure homogenizer. For comparative reasons and for reaction control, the same sugarcane bagasse was pre-treated only by the mechanical process, generating the sample that is referred to as mechanically refined bagasse (MRB). All of these materials were characterized in relation to their chemical composition according to the methodology proposed by NREL. The cane bagasse fibers obtained after all these treatments were characterized for their cationic demand, rheological behavior, morphology (by transmission electron microscopy) and crystallinity index (by X-ray diffraction). The following levels of glucans (mainly cellulose), hemicelluloses and lignin were found in these partially delignified materials: 53.8%, 19.7% and 11.6% for the MRB group; 87.8%, <0.1% and 7.2% for the SE-7.5-60' group; 84.3%, <0.1% and 4.8% for the SE-7.5-180' group; 85.9%, <0.1% and 8.4% for the SE-15-60' group; and 82.2%, <0.1% and 5% for the SE-15-180' group, respectively. According to rheological and microscopic analyses, all groups reached nanometric sizes (mean diameter less than 100 nm and aspect ratio greater than 50) for their classification as nanocellulose. The MRB-B and SE-15' groups had the lowest values of fiber diameter (<20 nm), while those of the SE-7.5' group were greater than 50 nm. The values of aspect ratio and crystallinity index were similar between all groups (~100 and ~73%, respectively), with the exception of the SE-15'-180' group (~78.5 and 77%, respectively) due to the co-presence of shorter nanofibers that were classified by microscopy as nanocrystalline cellulose. The presence of nanofibers and spherical lignin nanoparticles was also found in the SE-7.5'-60' group. Compared to the literature, the steam explosion technique decreased the severity of the mechanical process necessary to reach the nanofiber scale and generated nanomaterials with higher crystallinity indexes. These LNCs were then incorporated as reinforcing agents in handsheets of a commercial *Eucalyptus* sp. kraft pulp, whose properties were measured in tensile, burst and tear tests. There was an improvement in the tensile index for the MRB-B (22.9% to 3%), SE-7.5'-60' (16.6% to 3%) and SE-15'-60' (12.8% to 1%) groups and in tear index for SE-15'-180' (13.6% to 5%), with no detectable changes in burst index. However, contrary to other studies, all handsheets had similar mass recoveries and no need of compatibilizers for handsheet formation.

**Keywords:** Nanocellulose, lignonanocellulose, steam explosion, sugarcane bagasse, high pressure homogenization.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 — (A) FENÔMENO DE MUTAROTAÇÃO, MOSTRANDO A INTERCONVERSÃO ENTRE OS ISÔMEROS DE POSIÇÃO DA GLUCOSE. (B) REPRESENTAÇÃO DA CADEIA LINEAR DA CELULOSE .....	21
FIGURA 2 — ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA BIOCÍNTese DA CELULOSE .....	22
FIGURA 3 — ARRANJO DE ROSETAS EM GRUPOS DE DIFERENTES ISOFORMAS DO COMPLEXO DA CELULOSE SINTASE .....	23
FIGURA 4 — REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA CRISTALINA DA CELULOSE EM VEGETAIS.....	24
FIGURA 5 — MODELO ESTRUTURAL DA LIGNOCELULOSE .....	25
FIGURA 6 — ILUSTRAÇÃO REPRESENTATIVA DE TRATAMENTOS DISPONÍVEIS PARA OBTER NANOPARTÍCULAS DE CELULOSE.....	25
FIGURA 7 — CLASSIFICAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE CELULOSE DE ACORDO COM A TAPPI.....	26
FIGURA 8 — MODELO ESTRUTURAL DE HETEROXILANAS COMO EXEMPLO TÍPICO DE HEMICELULOSES DO BAGAÇO DE CANA.....	27
FIGURA 9 — PRECURSORES DA LIGNINA E SEUS RESPECTIVOS MONOMEROS .....	29
FIGURA 10 — REPRESENTAÇÃO DE UM FRAGMENTO ESTRUTURAL DE LIGNINA .....	29
FIGURA 11 — COMPARAÇÃO GRÁFICA DA RELAÇÃO DO CONTEÚDO DE LIGNINA COM AS PROPRIEDADES DE NANOCELULOSES.....	31
FIGURA 12 — EFEITO DA PRESENÇA DA LIGNINA EM PROCESSOS DE DESFIBRILAÇÃO MECÂNICA PARA OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS .....	32
FIGURA 13 — DIAGRAMA DE FASES DA ÁGUA SIMPLIFICADO, ILUSTRANDO AS CONDIÇÕES DE TEMPERATURA, PRESSÃO E ESTADO DO MÉTODO DE EXPLOÇÃO A VAPOR .....	34
FIGURA 14 — POSSÍVEIS REAÇÕES QUÍMICAS DURANTE O PERÍODO DE RESIDÊNCIA PREVIAMENTE A DESCOMPRESSÃO DURANTE A EXPLOÇÃO A VAPOR .....	35
FIGURA 15 — HIPÓTESE DE POSSÍVEIS MECANISMOS DE REAÇÃO PARA FORMAÇÃO DE PSEUDOLIGNINA.....	37
FIGURA 16 — POSSÍVEIS MECANISMOS DE REAÇÃO DO NaOH NA DESPOLIMERIZAÇÃO DA LIGNINA .....	38
FIGURA 17 — POSSÍVEIS REAÇÕES ENTRE LIGNINA E HIPOCLORITO NO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO DA BIOMASSA .....	39
FIGURA 18 — MODELO CLÁSSICO DE DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA DE CELULOSE .....	41

FIGURA 19 — ESQUEMA SIMPLIFICADO DE HOMOGENEIZAÇÃO POR ALTA PRESSÃO .....	42
FIGURA 20 — DIAGRAMA DE PROCEDIMENTOS GERAIS PARA OBTER AMOSTRAS HOMOGENIZADAS POR ALTA PRESSÃO .....	46
FIGURA 21 — FOTOGRAFIAS DAS SUSPENSÕES DE CNF E CNC NA CONCENTRAÇÃO DE 1% EM MASSA COM 48 HORAS DE TEMPO DE ESPERA .....	58
FIGURA 22 — RESUMO DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇUCAR <i>IN NATURA</i> EM COMPARAÇÃO COM OS GRUPOS APÓS DESFIBRILAÇÃO MECÂNICA .....	58
FIGURA 23 — PERFIL DE VISCOSIDADE VS TAXA DE CISALHAMENTO, PLOTS DE HUGGINS E KRAEMER E SIMHA DAS AMOSTRAS HOMOGENEIZADAS POR ALTA PRESSÃO .....	61
FIGURA 24 — MICROGRAFIAS DE MICROSCÓPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DAS AMOSTRAS HOMOGENIZADAS POR ALTA PRESSÃO .....	63
FIGURA 25 — MICROGRAFIAS DE MICROSCÓPIO DE TRANSMISSÃO ELETRÔNICA DA AMOSTRA SE 7.5-60' EXIBINDO AS PARTÍCULAS ESFÉRICAS POR CONTRASTE URANÍLICO .....	64
FIGURA 26 — DIFRACTOGRAMAS DE RAIOS-X DAS AMOSTRAS HOMOGENEIZADAS POR ALTA PRESSÃO .....	65
FIGURA 27 — ÍNDICE DE TRAÇÃO DE FOLHAS DE PAPEL DE FIBRAS <i>KRAFT</i> INCORPORADAS COM LIGNONANOCELULOSES .....	72
FIGURA 28 — ÍNDICE DE RASGO DE FOLHAS DE PAPEL DE FIBRAS <i>KRAFT</i> INCORPORADAS COM LIGNONANOCELULOSES .....	73
FIGURA 29 — ÍNDICE DE ESTOURO DE FOLHAS DE PAPEL DE FIBRAS <i>KRAFT</i> INCORPORADAS COM LIGNONANOCELULOSES .....	74

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 — PROPRIEDADES DE NANOCELULOSES NA FORMA CRISTALINA (CNC) E FIBRILADA (CNF) OBTIDAS POR DIFERENTES MÉTODOS DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇUCAR .....	17
TABELA 2 — COMPARAÇÃO DE PROPRIEDADES DA CELULOSE OBTIDA POR FONTES COMERCIAIS DE EUCALIPTO E PINUS EM RELAÇÃO À CELULOSE DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR .....	18
TABELA 3 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇUCAR OBTIDA NO PRESENTE TRABALHO EM COMPARAÇÃO COM DADOS DISPONÍVEIS NA LITERATURA .....	52
TABELA 4 — COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO BAGAÇO MECANICAMENTE REFINADO APÓS HOMOGENEIZAÇÃO POR ALTA PRESSÃO .....	53
TABELA 5 — COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO BAGAÇO EXPLODIDO A VAPOR POR 7,5 E 15 MIN APÓS HOMOGENEIZAÇÃO POR ALTA PRESSÃO .....	55
TABELA 6 — DEMANDA CATIONICA DE AMOSTRAS HOMOGENEIZADAS EM ALTA PRESSÃO .....	59
TABELA 7 – COMPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS OBTIDAS COM DADOS EM LITERATURA A PARTIR DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR PRÉ-TRATADOS POR EXPLOSÃO A VAPOR .....	66
TABELA 8 — COMPARAÇÃO DAS LIGNONANOCELULOSES OBTIDAS NO PRESENTE TRABALHO COM DADOS DISPONÍVEIS NA LITERATURA .....	68
TABELA 9 — COMPARAÇÃO DE INCORPORAÇÃO DE LIGNONANOCELULOSES E NANOCELULOSES EM FOLHAS DE PAPEL .....	76

## LISTA DE ABREVIATURAS

**CNC:** celulose nanocristalina

**CNF:** celulose nanofibrilada

**CMC:** celulose microcristalina

**CMF:** celulose microfibrilada

**CrI:** índice de cristalinidade

**EH:** tratamento enzimático

***f*:** razão de aspecto, valor obtido do produto da divisão da largura pelo comprimento dos materiais nanocelulósicos

**HPH:** Homogeneização por alta pressão, do inglês *high pressure homogenization*

**LCNC:** celulose nanocristalina contendo lignina

**LCNF:** celulose nanofibrilada contendo lignina

**LCMC:** celulose microcristalina contendo lignina

**LCMF:** celulose microfibrilada contendo lignina

**M:** tratamento mecânico

**MRB:** bagaço de cana-de-açúcar refinado mecanicamente, do inglês *mechanical refining bagasse*.

**MRB-NAOH:** bagaço de cana-de-açúcar refinado mecanicamente seguido de tratamento por NaOH

**MRB-B:** bagaço de cana-de-açúcar refinado mecanicamente seguido de tratamento por NaOH e branqueamento com NaOCl por 180 min e homogeneizado por alta pressão.

**SE:** explosão a vapor, do inglês *steam explosion*

**SE-7,5:** bagaço de cana-de-açúcar submetido a tratamento de explosão a vapor por 7,5 min

**SE-15:** bagaço de cana-de-açúcar submetido a tratamento de explosão a vapor por 15 min

**SE-7,5-60':** bagaço de cana-de-açúcar submetido a tratamento de explosão a vapor por 7,5 min seguido de tratamento por NaOH e branqueamento com NaOCl por 60 min e homogeneizado por alta pressão.

**SE-7,5-180':** bagaço de cana-de-açúcar submetido a tratamento de explosão a vapor por 7,5 min seguido de tratamento por NaOH e branqueamento com NaOCl por 180 min e homogeneizado por alta pressão.

**SE-15-60’:** bagaço de cana-de-açúcar submetido a tratamento de explosão a vapor por 7,5 min seguido de tratamento por NaOH e branqueamento com NaOCl por 60 min e homogeneizado por alta pressão.

**SE-15-180’:** bagaço de cana-de-açúcar submetido a tratamento de explosão a vapor por 7,5 min seguido de tratamento por NaOH e branqueamento com NaOCl por 180 min e homogeneizado por alta pressão.

**SLCN:** nanocelulose esférica contendo lignina.



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
1.1	JUSTIFICATIVA.....	15
1.2	OBJETIVOS.....	18
1.2.1	Objetivo Geral.....	18
1.2.2	Objetivos Específicos .....	19
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
2.1	COMPOSIÇÃO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS .....	20
2.1.1	Composição parede celular vegetal.....	20
2.1.2	Celulose.....	20
2.1.3	Hemiceluloses .....	27
2.1.4	Lignina.....	28
2.1.	INFLUÊNCIA DA PRESENÇA DA LIGNINA EM NANOCELULOSES .....	30
2.2.	PRÉ-TRATAMENTO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS .....	32
2.1.5	Explosão a vapor .....	33
2.1.6	Deslignificação em meio alcalino .....	37
2.1.7	Branqueamento com hipoclorito de sódio.....	38
2.1.8	Hidrólise enzimática.....	40
2.1.9	Homogenização a alta pressão .....	42
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>43</b>
3.1	MATERIAL .....	43
3.2	MÉTODOS.....	43
3.2.1	Explosão a vapor .....	43
3.2.2	Refino mecânico.....	44
3.2.3	Deslignificação.....	44
3.2.4	Hidrolise enzimática e homogeneização por alta pressão .....	44
3.2.5	Determinação da composição química dos substratos nativos e pré-tratados.....	45
3.2.6	Demanda catiônica .....	47
3.2.7	Microscopia eletrônica de transmissão.....	48
3.2.8	Perfil de viscosidade.....	48
3.2.9	Difração de raios X.....	49
3.2.10	Formação de papeis.....	50

<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>51</b>
4.1	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS BIOMASSAS .....	51
4.2	CARACTERIZAÇÕES DA BIOMASSA APÓS PROCESSAMENTO POR HOMOGENEIZADOR DE ALTA PRESSÃO.....	57
4.3	INCORPORAÇÃO DE NANOFIBRAS EM FOLHAS DE PAPÉIS .....	70
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>77</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>78</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 JUSTIFICATIVA

A agroindústria gera quantidades substanciais de resíduos de colheita e de processamento industrial a cada ano. Apesar desses resíduos serem frequentemente de baixa toxicidade, o descarte descontrolado no ambiente pode gerar índices alarmantes de poluição e desequilíbrio ambiental. Atualmente, tais resíduos são destinados em grande parte como combustível dentro da própria cadeia de produção, procedimento que, embora economicamente atraente, libera gases de efeito estufa na atmosfera (*e.g.*, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, CO e N<sub>2</sub>O) causando grande impacto ambiental (JENKINS; BAXTER; KOPPEJAN, 2019; MATHUR; SRIVASTAVA, 2019; WILLIAMS; JONES; MA; POURKASHANIAN, 2012). Alternativas para oferecer um destino sustentável e mais economicamente atraente a esses resíduos estão ganhando atenção na academia e na indústria nesses últimos anos. A maior parte desses resíduos contém três frações majoritárias em comum, celulose, hemiceluloses e lignina, e todos apresentam alto potencial de conversão para produtos de maior valor agregado (HILOIDHARI; BHUYAN; GOGOI; SETH *et al.*, 2020; MOUSTAKAS; LOIZIDOU; REHAN; NIZAMI, 2019; XU; NASROLLAHZADEH; SELVA; ISSAABADI *et al.*, 2019).

Entre esses produtos de interesse econômico estão as nanoceluloses, que vêm despertando grande interesse industrial na atualidade. Brevemente, as nanoceluloses são definidas como fibras de celulose que contêm diâmetros inferiores a 100 nm e comprimentos variando de 200 nm a vários micrometros. Nessa escala são observadas propriedades excepcionais, como maior resistência mecânica e alta área superficial, que apresentam grande potencial para diferentes aplicações, como nas áreas biomédicas, cosmética, alimentícia, agrícola, energética, automobilística e de construção civil (ABE; YANO, 2009; KHALIL; DAVOUDPOUR; ISLAM; MUSTAPHA *et al.*, 2014; LI; WEI; WANG; CHEN *et al.*, 2012).

Atualmente as nanoceluloses extraídas a partir de polpas celulósicas branqueadas de *Pinus* sp. e *Eucalyptus* sp. (US\$ 800 ton<sup>-1</sup>) apresentam um preço estimado de US\$ 2000 a US\$ 7200 ton<sup>-1</sup>. Por outro lado, o custo de produção de nanoceluloses pode ser reduzido a US\$ 500-800 ton<sup>-1</sup> apenas utilizando fontes de extração provindas de resíduos agrícolas, como recentemente sugerido pela empresa Metgen<sup>®</sup> (METGEN, 2019). No entanto, a extração de nanocelulose a partir de resíduos agrícolas não é um processo trivial porque a celulose ocorre em alto grau de

associação com hemiceluloses e lignina em diferentes proporções, culminando em uma estrutura altamente recalcitrante. Essa é uma das razões pelas quais fontes convencionais de madeira de eucalipto e de pinus são submetidas a múltiplas etapas de tratamento químico e mecânico para o seu aproveitamento, como é o caso dos processos de polpação e branqueamento na indústria papelreira.

Embora exista uma corrida tecnológica com o objetivo de escalonar a produção de nanoceluloses extraídas a partir de celuloses branqueadas, o interesse no uso de fontes que não tenham sofrido branqueamento químico tem crescido consideravelmente nos últimos anos (JIANG; LIU; YANG; SONG *et al.*, 2018). Tal tendência se justifica porque a produção de nanocelulose contendo lignina (lignonanoceluloses) pode trazer alguns benefícios como maiores rendimentos, menor custo de produção e menor impacto ambiental. Além disso, as lignonanoceluloses apresentam caráter menos hidrofílico do que as nanoceluloses desprovidas de lignina, podendo facilitar o seu transporte e estocagem (devido a facilidade de secagem e consequentemente menor peso devido a remoção da água) e ainda melhorar a sua interação com materiais hidrofóbicos. No entanto é necessário que haja uma remoção parcial da lignina, pois altos teores aumentam consideravelmente a recalcitrância da biomassa em processos top-down para produção de nanoceluloses. De fato, Jiang, Liu, Yang *et al.* (2019) demonstraram que deslignificação parcial da biomassa a teores de lignina entre 7 a 14% reduziu a recalcitrância do material e proporcionou efeitos benéficos como produção de fibras com menor diâmetro e maior homogeneidade, quando comparadas com fibras sem lignina

Não obstante, ainda apresentam estabilidade térmica superior, podendo ser empregadas em procedimentos que exijam maiores temperaturas, como, por exemplo, a extrusão térmica em blendas com poliamidas, que é de grande interesse à produção de peças automotivas (KARGARZADEH; HUANG; LIN; AHMAD *et al.*, 2018).

Na academia, grandes esforços vêm sendo realizados nos últimos anos para buscar alternativas que possam viabilizar o escalonamento da nanocelulose contendo ou não lignina em sua composição. Com esse objetivo, o desenvolvimento de métodos alternativos de pré-tratamento figura entre as principais estratégias para otimizar diferentes etapas do processo de obtenção de nanofibras. Nesse sentido, a explosão a vapor, um método alternativo para o pré-tratamento de materiais ligno-celulósicos e já utilizado em escala industrial para produção de etanol de segunda geração a partir de resíduos agrícolas como o bagaço de cana-de-açúcar, pode ser uma alternativa interessante para a viabilização de produção de nanofibras contendo lignina. Esse tratamento consiste em submeter materiais lignocelulósicos à ação do vapor d'água em

alta pressão, seguido de descompressão rápida. O resultado desse processo promove a remoção quase total das hemiceluloses da biomassa, sem remover a lignina presente. Adicionalmente, esse pré-tratamento promove a desfibrilação do material, aumentando a sua área superficial e facilitando a eficiência de tratamentos posteriores (SONG; LI; HAN; ZHANG *et al.*, 2019).

Apesar da obtenção de nanoceluloses a partir de um resíduo agrícola de baixo custo como o bagaço de cana-de-açúcar ser atraente do ponto de vista econômico e ambiental, o processo ainda apresenta alguns desafios para melhorar a homogeneidade e as propriedades do produto final (*e.g.*, tamanho, cristalinidade, estabilidade térmica), que ainda apresentam alta variabilidade (TABELA 1).

TABELA 1 — PROPRIEDADES DE NANOCELULOSES NA FORMA CRISTALINA (CNC) E FIBRILADA (CNF) OBTIDAS POR DIFERENTES MÉTODOS DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

NC	Método	Diâmetro (nm)	Comprimento (nm)	CrI (%)	Referências
CNC	HA	9,8 ± 6,3	280,1 ± 73,3	68,54 ± 1,3	Leistritz <i>et al.</i> (2006)
	HE	14 – 18	193 – 246	77,7 – 81,7	Camargo <i>et al.</i> (2016)
	HA	4,1 – 7,0	89 – 117	77 – 86	Oliveira <i>et al.</i> (2016)
	<i>Grinding</i> /HE	4 – 12	1000 – 5000	63,95-61,59	Teixeira <i>et al.</i> (2015)
	HA	20 – 60	250 – 480	72,5	Kumar <i>et al.</i> (2014)
	HA	10,11 ± 3,36	247,51 ± 32,34		Slavutsky; Bertuzzi (2014)
	HA	35	170		Mandal; Chakrabarty (2011)
	HA	4 ± 2	255 ± 55	70,5 – 87,5	Teixeira <i>et al.</i> (2011)
CNF	HG	5 – 10	264 ± 69	68,1 ± 0,18	Saelee <i>et al.</i> (2016)
	HG	15 ± 8		40,0	Zhang <i>et al.</i> (2016)
	HG	60 – 100	3000 – 4000		Bansal; Chauhan; Kaushik; Sharma (2016)
	USAI	31 – 33			Santucci <i>et al.</i> (2016)
	<i>Grinding</i>	4-35	500 – 1500	59,6	Teixeira <i>et al.</i> (2015)
	USAI	~40			Campos <i>et al.</i> (2013)
	HG	10 – 20		36	Li <i>et al.</i> (2012)
	HG/HA	30			Battacharya <i>et al.</i> (2008)

LEGENDA: HA, hidrólise ácida; HE, hidrólise enzimática; CrI, índice de cristalinidade; HG, homogeneização; USAI, ultrasonicação de alta intensidade.

Como é possível observar na TABELA 2 em relação ao conteúdo celulósico, o bagaço de cana, comparativamente às fontes mais utilizadas na indústria como o pinus e eucalipto, apresenta índice de cristalinidade (CrI) e diâmetro das fibras semelhantes, tornando-se fonte de grande potencial para extração de nanoceluloses.

TABELA 2 — COMPARAÇÃO DE PROPRIEDADES DA CELULOSE OBTIDA POR FONTES COMERCIAIS DE EUCALIPTO E PINUS EM RELAÇÃO À CELULOSE DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Fonte	MW (g/mol)	Tamanho da Fibra (mm)	DP	Diâmetro ( $\mu$ m)	CrI (%)
Bagaço	157800-168000	1-1,5	974-1039	20	56,7
Eucalipto	648000-891000	1,25	4000-5500	25	54
Pinus	648000-891000	3,0	4000-5500	30	57

FONTE: Adaptado de Pereira, Arantes (2018)

A ideia da obtenção de nanoceluloses em paralelo a um processo já disponível em escala industrial, como a produção de etanol de segunda geração a partir do bagaço de cana-de-açúcar, não é algo novo. De acordo com revisão de literatura realizada nesse trabalho, vários métodos para a obtenção das nanoceluloses já foram investigados, como branqueamento seguido de hidrólise com ácido sulfúrico diluído, oxidação por reagente TEMPO (2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil) e tratamentos mecânicos de alta intensidade. Tais procedimentos encarecem o processo e o tornam ecologicamente não amigável em alguns casos. Na literatura, poucos trabalhos têm sido dedicados à exploração da explosão a vapor como técnica de obtenção de nanoceluloses (NC) a partir do bagaço de cana. Já seu uso para a obtenção de LNC não foi identificado em nossa revisão bibliográfica. Assim, devido sua aparente originalidade, o presente trabalho foi desenvolvido para avaliar o potencial da explosão a vapor, seguida de técnicas de deslignificação parcial, hidrólise enzimática e tratamento mecânico, para a produção de LNC a partir do bagaço de cana.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Estabelecer metodologias para a obtenção de nanocelulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar utilizando técnicas de explosão a vapor e de deslignificação alcalina, com o intuito de avaliar as propriedades dos nanomateriais obtidos para aplicação como agentes de reforço.



### 1.2.2 Objetivos Específicos

- I. Pré-tratar bagaço de cana-de-açúcar pela técnica de explosão seguida de estratégias de deslignificação parcial para produzir nanomateriais celulósicos com diferentes teores de lignina;
- II. Realizar a hidrólise enzimática dos materiais pré-tratados, buscando reduzir o gasto energético em etapas posteriores de desfibrilação mecânica;
- III. Realizar a desfibrilação mecânica dos materiais hidrolisados enzimaticamente, selecionando somente aqueles que apresentarem aspecto de gel, característico da obtenção de nanofibras;
- IV. Realizar a caracterização química e morfológica das nanofibras adquiridas em cada processo, usando as técnicas de difração de raio-X, espectroscopia vibracional, cromatografia e a microscopia eletrônica de transmissão;
- V. Realizar a incorporação das nanofibrilas produzidas em folhas de papel;
- VI. Avaliar as propriedades das partículas de nanocelulose extraídas como agentes de reforço em folhas de papel.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 COMPOSIÇÃO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

#### 2.1.1 Composição parede celular vegetal

Materiais lignocelulósicos são gerados durante a biossíntese de vegetais a partir da associação das macromoléculas de celulose, hemiceluloses, lignina e outros compostos minoritários em diferentes proporções, cuja composição depende da espécie vegetal em questão. Além de componentes macromoleculares, a biomassa também contém substâncias responsáveis por características como cor, sabor e cheiro da planta, denominados extraíveis (D'ALMEIDA, 1988). Esses podem ser compostos por terpenos, lignanas, estilbenos, flavonoides, ácidos fenólicos, gorduras, ceras, ácidos graxos, álcoois, esteroides e hidrocarbonetos. Além dos extraíveis, que podem ser parcialmente removidos por solventes, existem ainda os componentes não-extraíveis, geralmente formados por proteínas, materiais pécticos e cinzas (KLOCK; MUÑIZ; HERNANDEZ; ANDRADE, 2005).

O isolamento e/ou processamento desses materiais é dificultado pela alta interação que existe entre os componentes citados. Dessa forma, faz-se necessária a aplicação de pré-tratamentos químicos e físicos para aumentar a acessibilidade química do material lignocelulósico, buscando favorecer processos posteriores como a hidrólise e a fermentação em produtos de interesse comercial (RAMOS, 2003b).

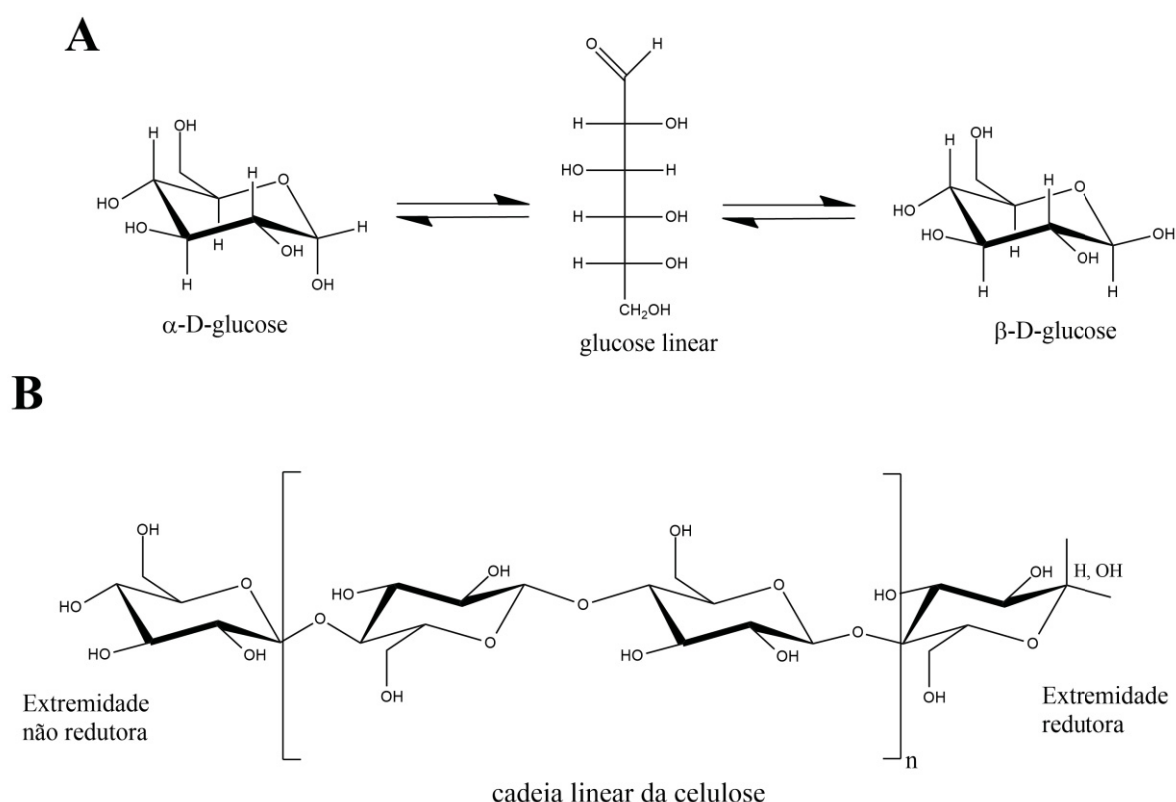
#### 2.1.2 Celulose

A celulose está entre os biopolímeros que se destacam tanto em abundância quanto em suas possibilidades de utilização. Sua principal função em organismos pluricelulares é estrutural. É produzida por uma grande variedade de organismos como bactérias, algas, tunicados e vegetais superiores, e estima-se que sua disponibilidade total na biosfera seja da ordem de 20 a 30.10<sup>10</sup> t (FENGEL, 1989; MATHEW; DUFRESNE, 2002).

A celulose é um homopolissacarídeo linear constituído de unidades D-glucopirranose (D-Glcp) unidas por ligação glicosídicas  $\beta$  do tipo (1→4). O fato de a celulose ser constituída por

moléculas de glucose não é fortuito, mas resultante da conformação excepcionalmente estável adquirida pela  $\beta$ -D-Glcp em cadeira  ${}^4C_1$ , onde todas as hidroxilas se encontram em posição equatorial ao plano do anel hemiacetálico. O carbono que possui propriedades redutoras em um carboidrato é denominado carbono anomérico (C-1), posição em que, em meio aquoso, o anel hemiacetálico pode abrir e fechar gerando dois isômeros de posição denominados anômeros. O anômero  $\alpha$  apresenta um grupamento hidroxílico axial em C-1, enquanto a hidroxila do anômero  $\beta$  é equatorial e o equilíbrio entre essas duas formas em solução aquosa é denominado mutarrotação. Uma estabilidade adicional é dada à celulose porque as hidroxilas do carbono anomérico das unidades de D-Glcp também se encontram em posição equatorial, como ilustrado na FIGURA 1. Já a ligação química resultante da condensação de dois monossacarídeos é denominada ligação glicosídica, que ocorre com a eliminação de uma molécula de água.

FIGURA 1 — (A) FENÔMENO DE MUTARROTAÇÃO, MOSTRANDO A INTERCONVERSÃO ENTRE OS ISÔMEROS DE POSIÇÃO DA GLUCOSE. (B) REPRESENTAÇÃO DA CADEIA LINEAR DA CELULOSE

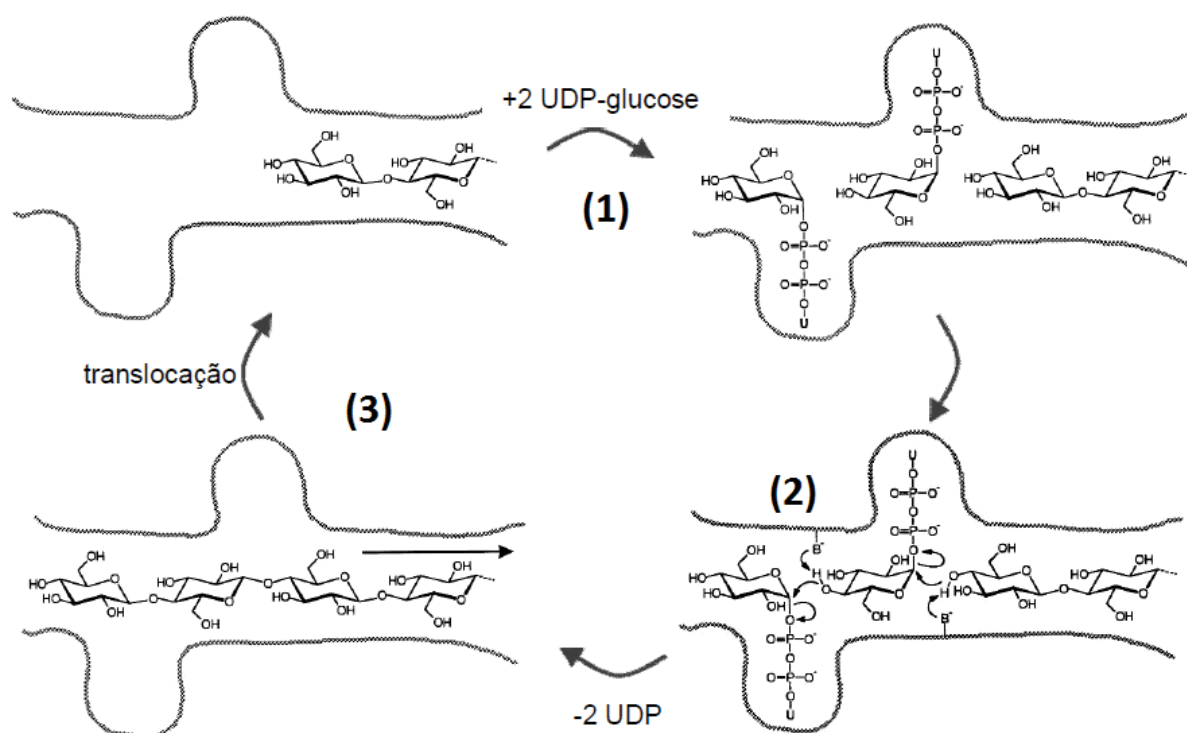


FONTE: O Autor (2020)

A estrutura monomérica desse polissacarídeo consiste de unidades de D-glucopirranose ligadas entre si por ligações glicosídicas do tipo  $\beta(1-4)$  (SOLOMONS, 1996). No modelo de biossíntese da celulose (FIGURA 2), duas unidades de uridina-difosfato glucose (UDP-glucose)

são posicionadas em alta complementaridade a um ângulo de  $180^\circ$  uma em relação à outra (vertical e horizontalmente), no interior do sítio ativo da celulose sintase (1). Após o posicionamento dessas unidades, ocorre a formação da ligação  $\beta$  do tipo (1,4) (2). O produto resultante, por apresentar baixa afinidade com o sítio ativo da enzima, se desloca a uma região mais favorável (3), liberando-o para prosseguir à adição de novas unidades de celobiose.

FIGURA 2 — ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA BIOSÍNTESE DA CELULOSE



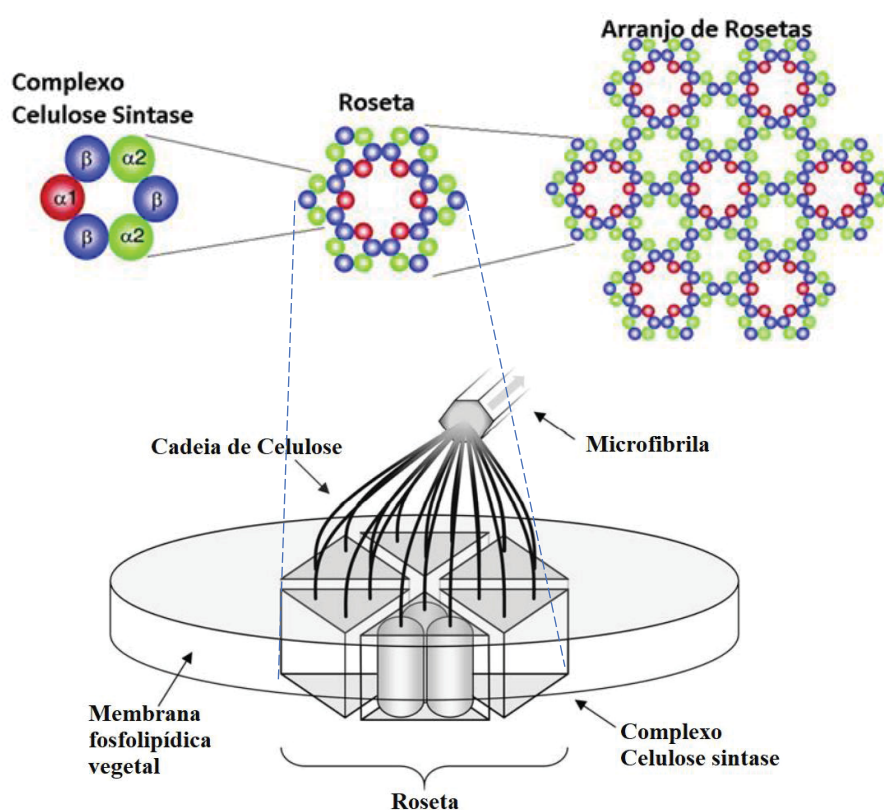
FONTE: Adaptado de Koyama *et al.* (1997)

Devido à análise conformacional da celulose, forças coesivas intramoleculares são formadas via ligações de hidrogênio, fazendo com que as cadeias adotem uma conformação linear rígida cujo tamanho varia de acordo com o grau de polimerização (DP, do inglês *degree of polymerization*), que representa o número de unidades de anidroglicose presentes na estrutura. O DP da celulose pode variar desde 2.400 unidades em plantas como a cavalinha (*Equisetum arvense*) até 15.300 unidades em materiais como o pelo de algodão (*Gossypium* sp.) (FENGEL, 1989; RAMOS, 2003a; SJÖSTRÖM, 1993).

A FIGURA 3 mostra que unidades de celulase sintase se encontram agrupadas em um complexo de 6 unidades, denominado complexo celulase sintase, e cada complexo agrupa-se

sucessivamente em novas 6 unidades, formando uma estrutura denominada roseta. Por último, as rosetas se agrupam em 7 unidades, formando um arranjo de rosetas. Como somente uma cadeia de celulose pode se expelida por vez a partir de cada complexo de celulase sintase, a fibrila elementar da celulose seria formada por 18 cadeias, ao invés de 36 como acreditava-se anteriormente. Conforme essas cadeias vão sendo expelidas, forma-se uma rede de ligações de hidrogênio entre elas, resultando em um agregado macromolecular de alta complementaridade estrutural (YANG; KUBICKI, 2020). Perturbações causadas pelo meio sobre o complexo de celulose sintase durante o procedimento de crescimento das fibras gera regiões com diferentes níveis de organização de empilhamento entre as cadeias, podendo ser discriminadas as de alta (regiões cristalinas) e as de baixa ou nenhuma organização estrutural (regiões amorfas).

FIGURA 3 — ARRANJO DE ROSETAS EM GRUPOS DE DIFERENTES ISOFORMAS DO COMPLEXO DA CELULOSE SINTASE



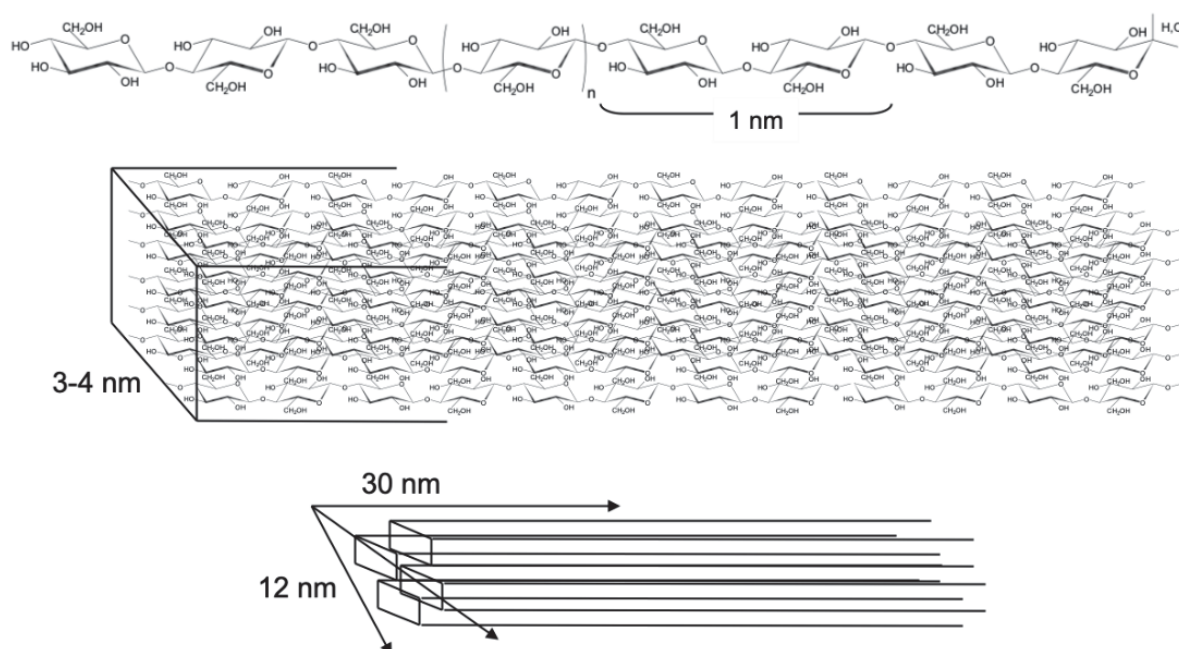
FONTE: Adaptado de Ding, Himmel (2006) e Paaanen (2020)

LEGENDA: Cada uma das rosetas contém 36 celulases sintases, embora sejam expelidas somente 18 cadeias de celulose por vez. Cada roseta é responsável por sintetizar a fibrila elementar da celulose, enquanto o arranjo de rosetas sintetiza a microfibrila de celulose.

Devido à conformação linear adotada e a posição espacial das hidroxilas, as cadeias de celulose conseguem interagir fortemente entre si por meio de ligações de hidrogênio intracadeia

e intercadeia, formando blocos cristalinos denominados fibrilas elementares com superfície hidrofílica e interior hidrofóbico (FIGURA 4-A) cujos diâmetros variam de 3 a 4 nm (FIGURA 4-B) (RAMOS, 2003a). A linearidade das cadeias é favorecida pela ocorrência de ligações de hidrogênio intracadeia entre o grupo hidroxila do carbono 3 (O3-H) de uma unidade de glucose e o oxigênio do anel (O5) da próxima unidade, bem como entre o grupo hidroxila do carbono 6 (O6-H) de uma unidade com o grupo hidroxila do carbono 2 (O2-H) de outra unidade. Por outro lado, todas as cadeias de celulose do agregado encontram-se em orientação paralela, ou seja, na mesma direção e sentido, e o agregado é então estabilizado por ligações de hidrogênio intermoleculares. Então, essas fibrilas associam-se em cristalitos (FIGURA 4-C), cuja seção transversal pode chegar a 12 nm. Em vegetais superiores, tais cristalitos se agregam em grupos de quatro com a interveniência de uma matriz de hemiceluloses e lignina formando as microfibrilas, onde as hemiceluloses atuam como uma interface que estabiliza internamente o sistema e a lignina age como um material cimentante (FIGURA 5) (RAMOS, 2003a).

FIGURA 4 — REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA CRISTALINA DA CELULOSE EM VEGETAIS.

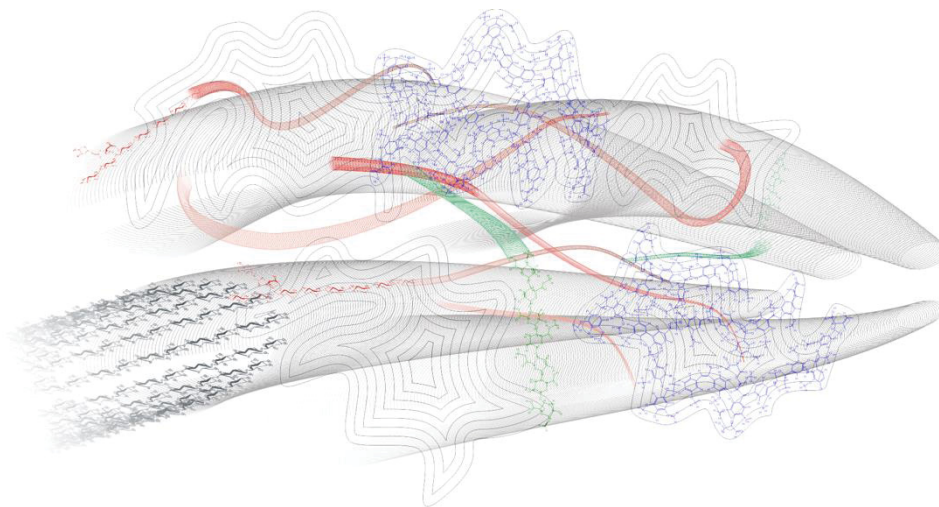


FONTE: RAMOS (2003)

LEGENDA: (A) Interação entre as cadeias de celulose para a formação de (B) Fibrilas elementares e (C) Cristalitos.



FIGURA 5 — MODELO ESTRUTURAL DA LIGNOCELULOSE

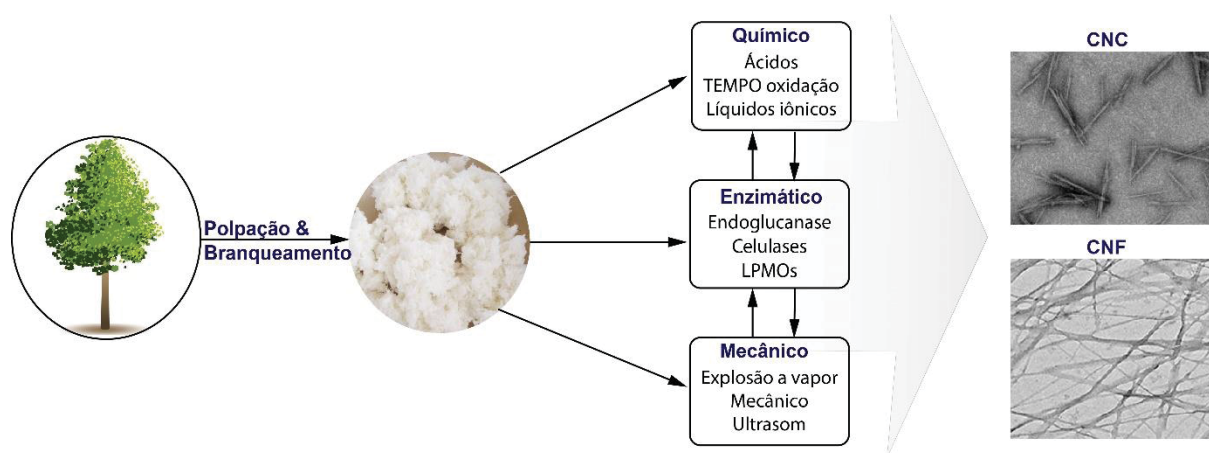


FONTE: Silveira; Siika-Aho; Kruus; Garriga *et al.* (2014)

LEGENDA: fibras de celulose em preto, lignina em curvas de nível azuis e hemiceluloses em vermelho

Novas propriedades muitas vezes não esperadas aparecem em diferentes materiais ao reduzi-los à escala nanométrica ( $10^{-9}$  m) e a celulose não é uma exceção a essa regra. Nesse último caso, diferentes estratégias para obtenção de nanopartículas do tipo *top-down* podem ser empregadas, como por tratamento sob condições controladas utilizando energia mecânica (*e.g.*, cisalhamento por moinho), eletromagnética (*e.g.*, cavitação por ultrassom), química (*e.g.*, hidrólise ácida) ou enzimática (*e.g.*, hidrólise utilizando celulases) (FIGURA 6).

FIGURA 6 — ILUSTRAÇÃO REPRESENTATIVA DE TRATAMENTOS DISPONÍVEIS PARA OBTEN NANOPARTÍCULAS DE CELULOSE

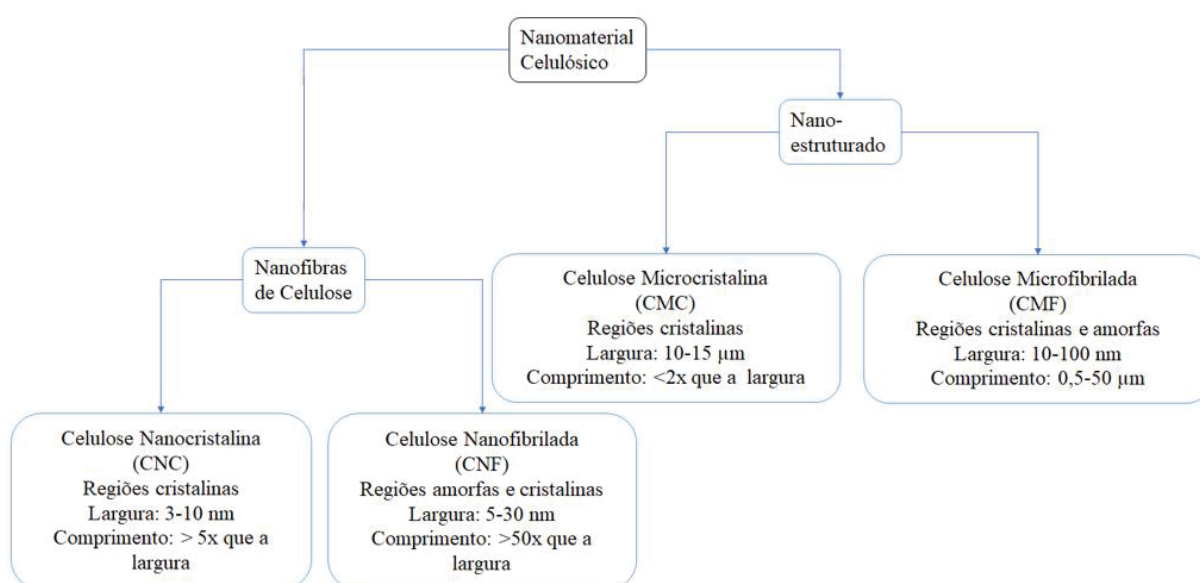


FONTE: O Autor (2020)

Ao reduzir o diâmetro das fibras a tamanhos inferiores a 100 nm, a celulose passa a ser denominada nanocelulose ou nanofibrilas de celulose. Nessa escala podem ser observadas propriedades excepcionais que são consideradas atrativas e adequadas a uma grande variedade de aplicações, como nas indústrias biomédica, cosmética, alimentícia, agrícola, energética, automobilística e de construção civil (ABE; YANO, 2009; KHALIL; DAVOUDPOUR; ISLAM; MUSTAPHA *et al.*, 2014; LI; WEI; WANG; CHEN *et al.*, 2012). Algumas dessas propriedades incluem alta resistência e rigidez mecânica (*e.g.*, módulo de Young de 10 a 167 GPa), baixa densidade ( $\leq 0,08 \text{ g cm}^{-3}$ ), alta área superficial ( $150 \text{ a } 600 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ), alta biocompatibilidade, baixa toxicidade e alta densidade de grupos hidroxila ( $3,84 \times 10^{-3} \text{ mol g}^{-1}$ ) que são facilmente suscetíveis à derivatização química. Além disso, apresenta caráter renovável, ampla disponibilidade ( $\approx 1$  trilhão de toneladas por ano) e preços cada vez mais competitivos no mercado ( $\leq 4\text{-}7 \text{ US\$ kg}^{-1}$ ) (DE CAMPOS; CORRÊA; CLARO; DE MORAIS TEIXEIRA *et al.*, 2019; DUFRESNE, 2019; HUANG; DUFRESNE; LIN, 2019).

Os diferentes tipos de nanocelulose são classificados de acordo com características físicas como tamanho e forma, mas também pelo método de preparo ao qual a amostra original foi submetida, que naturalmente depende do tipo de material lignocelulósico de onde as partículas de nanocelulose foram extraídas. A Associação Técnica da Indústria de Polpa e Papel (*Technical Association of the Pulp and Paper Industry* - TAPPI) definiu algumas terminologias baseadas principalmente nas dimensões das partículas, tal como mostrado na FIGURA 7.

FIGURA 7 — CLASSIFICAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE CELULOSE DE ACORDO COM A TAPPI



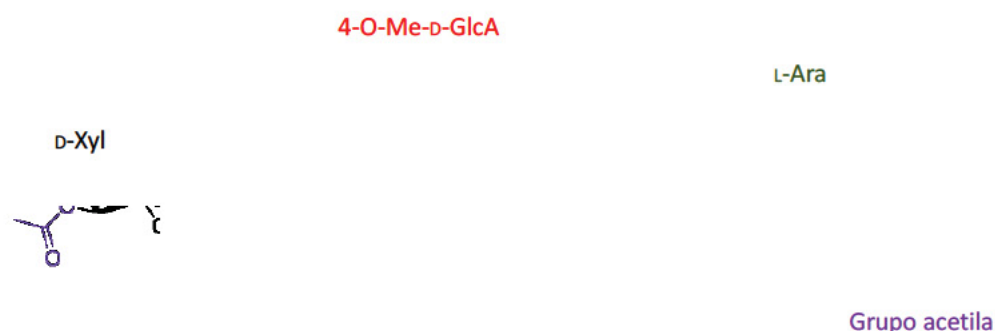
FONTE: Adaptado de TAPPI (2010).

### 2.1.3 Hemiceluloses

As hemiceluloses, que correspondem a cerca de 30% da composição da biomassa, podem conter pentoses (D-xilose, L-arabinose), hexoses (D-glucose, D-manose, D-galactose) e ácidos urônicos (ácido D-glucurônico) em sua estrutura (GÍRIO; FONSECA; CARVALHEIRO; DUARTE *et al.*, 2010) (FIGURA 8). Ao contrário da celulose, que possui regiões cristalinas e amorfas, as hemiceluloses são formadas majoritariamente por regiões amorfas devido a sua heterogeneidade e ao fato de serem parcialmente acetiladas, o que limita a ocorrência de interações por ligações de hidrogênio (SANTOS; QUEIRÓZ; COLODETTE; FERNANDES *et al.*, 2012). Devido esse caráter amorfo e à forma como diferentes substituintes estão ligados à cadeia principal, as hemiceluloses são bem mais suscetíveis à hidrólise do que a celulose.

No caso da cana-de-açúcar, a fração hemicelulósica é majoritariamente formada por arabinoglucuronoxilanas (cadeia principal de xilana contendo ramificações de arabinose e ácido 4-O-metil-glucurônico) e xiloglucanas (cadeia principal de glucana substituída em O-6 por unidades de xilose) (SZCZERBOWSKI *et al.*, 2014). A fração hemicelulósica presente no bagaço de cana também apresenta um grau de acetilação entre 3-6% (m/m). Esses grupos acetila podem estar presentes como substituintes de resíduos xilopiranosil da cadeia principal, envolvendo as hidroxilas dos carbonos C2 e C3.

FIGURA 8 — MODELO ESTRUTURAL DE HETEROXILANAS COMO EXEMPLO TÍPICO DE HEMICELULOSES DO BAGAÇO DE CANA.



FONTE: O Autor (2019).

### 2.1.4 Lignina

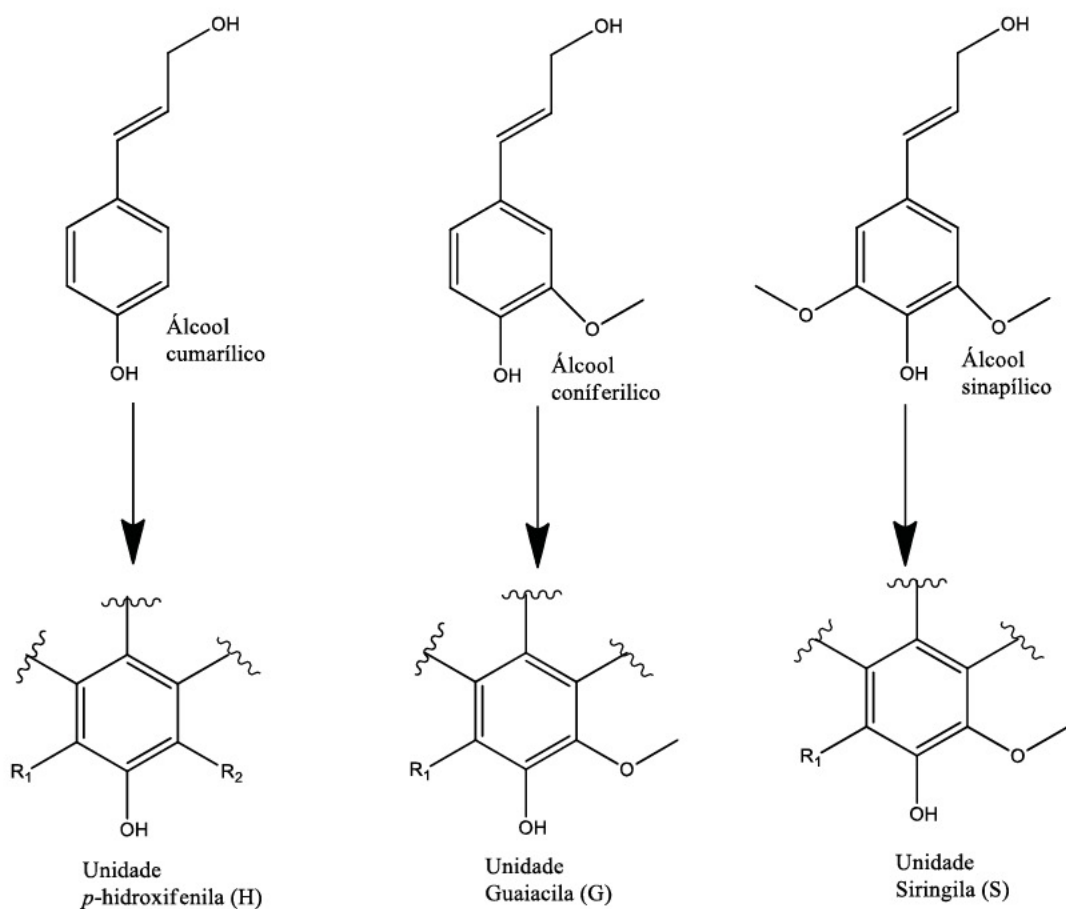
Lignina é considerada um material polifenólico amorfo que surge da polimerização desidrogenativa mediada por enzimas dos álcoois *p*-coumarílico, coniferílico e sinapílico, que na estrutura básica da lignina correspondem às unidades *p*-hidroxifenil (H), guaiacil (G) e siringil (S), também denominadas unidades fenilpropanoides. O papel da lignina na biomassa é o de garantir um alto grau de associação entre os seus macromoleculares (celulose e hemiceluloses), garantindo integridade estrutural, impermeabilidade à água e resistência contra a decomposição microbiana (HATAKEYAMA; HATAKEYAMA, 2009; LIN; LIN, 1990). Essa estrutura polifenólica e amorfa corresponde de 15 a 30% da biomassa vegetal, dependendo da fonte vegetal utilizada. Devido a seu caráter hidrofóbico e alta atividade antioxidante, a lignina é também responsável por garantir uma maior resistência a agentes de degradação químicos nas plantas (AUSTIN; BALLARÉ, 2010).

Dependendo da sua fonte, a lignina apresenta diferentes proporções de unidades cumarila (H), guaiacila (G) e siringila (S), que são derivadas dos álcoois *p*-coumarílico, coniferílico e sinapílico, respectivamente (FIGURA 9). Por exemplo, em ligninas de coníferas como o *Pinus* sp., em que a lignina apresenta uma razão de unidades de hidroxifenila (H) com unidades de guaiacila muito baixa (<0,1) sendo, portanto, denominada lignina G, ou em alguns casos como lignina HG (ALVES; SCHWANNINGER; PEREIRA; RODRIGUES, 2006). Para ligninas de *Eucalyptus* sp., a lignina é composta majoritariamente por unidades guaiacila e siringila com baixos teores de *p*-hidroxifenila, apresentando geralmente razões entre essas unidades de 1:4:6 (árvores jovens: 1 mês a 3 anos) e 1:10:39 (árvore velhas: ~9 anos), sendo assim denominada lignina GS (RENCORET; GUTIÉRREZ; NIETO; JIMÉNEZ-BARBERO *et al.*, 2011). No caso de ligninas de monocotiledôneas, como de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), as três unidades, H, G e S estão presentes em quantidades significantes, sendo denominadas como lignina HGS (BOERJAN; RALPH; BAUCHER, 2003).

Ao contrário da celulose e das hemiceluloses, as unidades monoméricas constituintes da lignina não são ordenadas, encontrando-se entrelaçadas por diferentes ligações carbono-carbono entre as cadeias alifáticas C3 ( $\beta$ - $\beta'$ ,  $\alpha$ - $\alpha'$ ,  $\alpha$ - $\beta'$ ), entre as cadeias alifáticas e os anéis aromáticos ( $\beta$ -5',  $\beta$ -1',  $\alpha$ -1',  $\beta$ -6') e entre carbonos aromáticos (5-5'), além de ligações éter envolvendo cadeias alifáticas e anéis aromáticos ( $\beta$ -O-4',  $\alpha$ -O-4') (LAURICHESSE; AVÉROUS, 2014) (FIGURA 10).

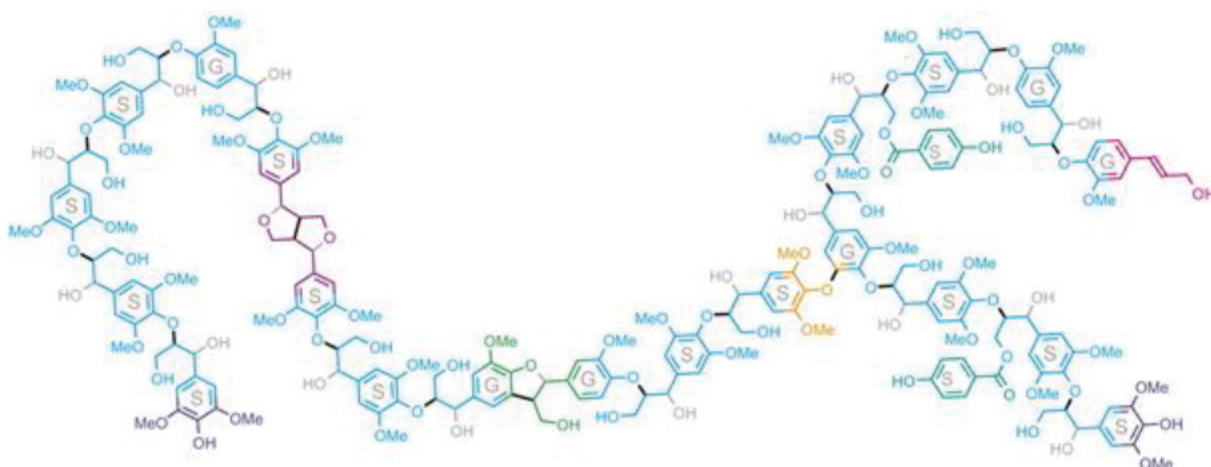


FIGURA 9 — PRECURSORES DA LIGNINA E SEUS RESPECTIVOS MONOMEROS



FONTE: O Autor (2019)

FIGURA 10 — REPRESENTAÇÃO DE UM FRAGMENTO ESTRUTURAL DE LIGNINA

FONTE: Adaptado de Vanholme; Demedts; Morreel; Ralph *et al.* (2010)

LEGENDA: Unidades de guaiacil (G) e siringil (S).

## 2.1. INFLUÊNCIA DA PRESENÇA DA LIGNINA EM NANOCELULOSES

Em relação a processos de redução das fibras celulósicas à escala nanométrica, vários estudos vêm demonstrando as vantagens da presença de lignina residual na biomassa para a desfibrilação mecânica. Embora a presença de lignina na matriz celulósica dificulte o processo de desfibrilação mecânica das fibras à escala nanométrica, (LI; PU; RAGAUSKAS, 2016; MCCANN; CARPITA, 2015; ZOGHLAMI; PAËS, 2019), a maior demanda energética para o processo é compensada pela qualidade final do produto obtido (GARCÍA; GANDINI; LABIDI; BELGACEM *et al.*, 2016; GHAEMI; ABDULLAH; ARIFFIN, 2019; HU; WANG; LIU; WU *et al.*, 2019; LEE; HAMID; ZAIN, 2014). Isso se deve ao fato de a lignina adsorver na superfície das nanofibras à medida em que o processo de desfibrilação acontece, causando um impedimento estérico, desfavorecendo interações fibra-fibra e garantindo maior estabilidade para as nanopartículas produzidas. Dessa forma, o procedimento mecânico produz um material de tamanho mais homogêneo e de menor diâmetro do que aquele derivado da biomassa deslignificada, em que as nanofibras formadas têm a tendência de se reagregar.

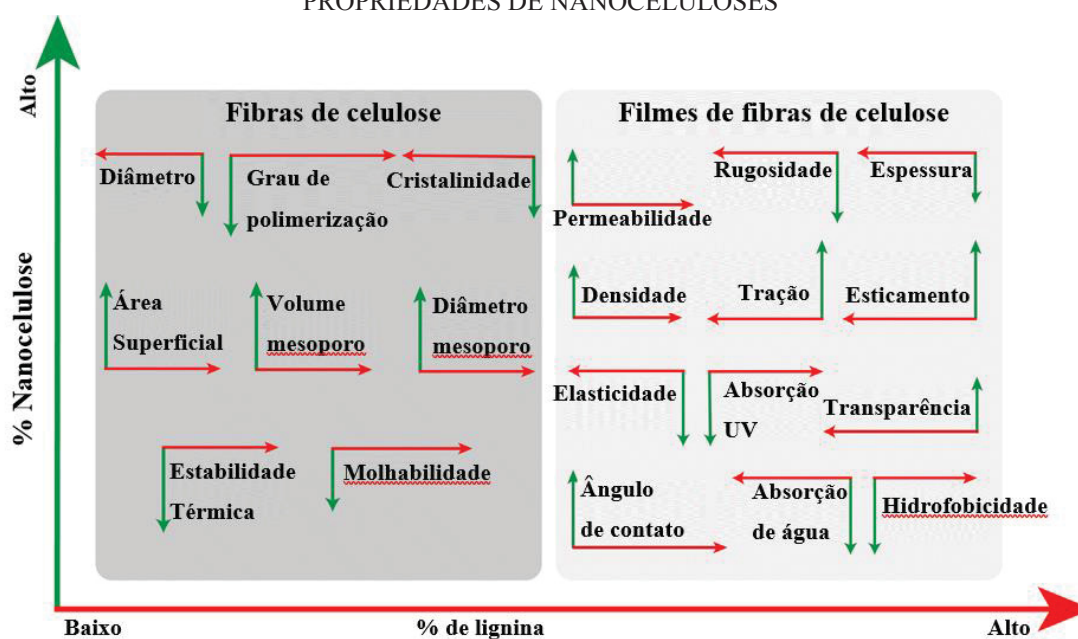
A presença de lignina também pode influenciar nas propriedades de filmes produzidos a partir desses nanomateriais, tais como rugosidade, densidade e opacidade (JIANG; LIU; YANG; SONG *et al.*, 2019). Isso se deve principalmente ao aumento do caráter hidrofóbico do produto, responsável pela alteração de várias de suas propriedades físico-químicas. Consequentemente, suspensões dessas fibras podem ser desidratadas mais facilmente e apresentam um aumento na interação e adesão com materiais de baixa hidrofilicidade (ROJO; PERESIN; SAMPSON; HOEGGER *et al.*, 2015). A lignina também confere maior estabilidade térmica às fibras celulósicas, e pode estar associada a efeitos de proteção contra radiação ultravioleta devido à presença de unidades fenólicas e outros cromóforos (HUANG; NAIR; CHEN; FEI *et al.*, 2019; NAIR; KUO; CHEN; YAN, 2017; NAIR; YAN, 2015). Em relação a desvantagens, a presença de lignina pode diminuir a alvura de corpos de prova e transparência de filmes produzidos na sua presença. No entanto, muitos dos estudos que avaliam alterações nessas propriedades são pouco conclusivos, pois a presença de outras macromoléculas como as hemiceluloses dificulta caracterizar se esses seriam efeitos isolados da lignina ou se devidos à interação dessa com outras macromoléculas presentes na estrutura.

Jiang *et al.* (2019) revisaram o efeito da lignina sobre amostras de nanocelulose branqueada, sem a presença de outras macromoléculas ou extrativos que poderiam causar influência externa sobre os ensaios realizados (FIGURA 11). A presença de lignina resultou em



fibras de maior homogeneidade, com menor variação do diâmetro para fibras obtidas de materiais mais lignificados. Maiores teores de lignina também favoreceram a obtenção de partículas com maior área superficial, resultando em maior estabilidade das partículas e maior grau de desfibrilação, com efeitos importantes sobre o grau de polimerização e a cristalinidade da celulose. Além disso, houve melhora no processo de secagem dado o caráter hidrofóbico da lignina. Já os filmes produzidos a partir de fibras contendo lignina, apesar de apresentarem menor transparência e propriedades mecânicas menos vantajosas se comparados a filmes produzidos a partir de fibras deslignificadas, apresentam outras vantagens como maior densidade, bloqueio de radiação ultravioleta e menor absorção de água que podem ser mais atraentes em setores como o da indústria alimentícia, por exemplo.

FIGURA 11 — COMPARAÇÃO GRÁFICA DA RELAÇÃO DO CONTEÚDO DE LIGNINA COM AS PROPRIEDADES DE NANOCELULOSES

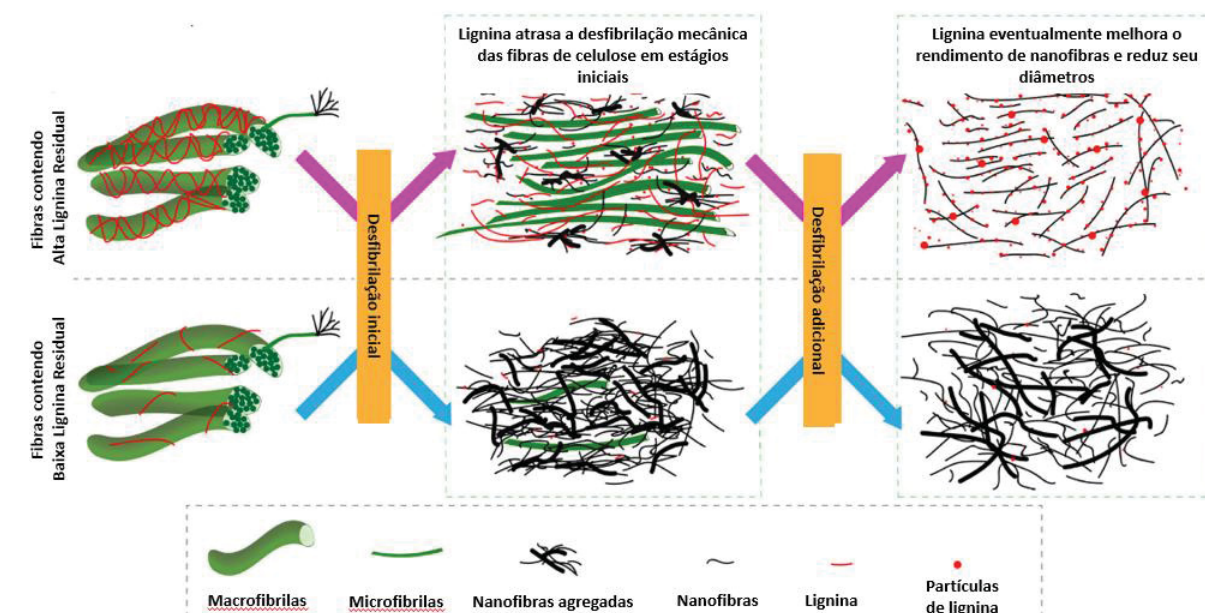


FONTE: Traduzido de Jiang *et al.* (2019)

Além das propriedades físico-químicas que podem ser influenciadas pela adição de lignina em nanoceluloses, o isolamento de nanocelulose de materiais que ainda apresentem lignina em sua composição pode ser vantajoso. Jiang *et al.* (2019) avaliaram o efeito da lignina em processo de desfibrilação mecânica para produção de nanocelulose a partir de fibras celulósicas contendo lignina (FIGURA 12). Para isso foram testadas três diferentes biomassas contendo alto (14,9%), médio (2,4%) e baixo (0,1%) teor de lignina. Assim como já constatado anteriormente, a maior presença de lignina aumentou a recalcitrância das fibras para

tratamentos mecânicos, no entanto, com maior gasto energético (número de passagens pelo moinho) foi possível obter fibras com maior homogeneidade de tamanho em comparação ao uso de fibras contendo menor quantidade de lignina. Além do mais, foi possível verificar a presença de nanopartículas esféricas de lignina na biomassa que continha maior conteúdo de lignina. Segundo o autor, essas partículas são formadas durante o processo de desfibrilação mecânica e atuam como agentes reticulantes, impedindo a formação de uma estrutura tridimensional estável que se formaria a partir das ligações de hidrogênio entre as nanofibras de celulose e a água. Supostamente, essas partículas também protegem a estrutura cristalina das fibras durante o processo de desfibrilação mecânica.

FIGURA 12 — EFEITO DA PRESENÇA DA LIGNINA EM PROCESSOS DE DESFIBRILAÇÃO MECÂNICA PARA OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS



FONTE: Traduzido de JIANG (2018)

LEGENDA: Na figura é possível observar a comparação de duas diferentes biomassas com alto teor de lignina (acima) e baixo conteúdo de lignina (abaixo) a esquerda quando submetidos a desfibrilação mecânica (centro), resultando em nanofibras distintas (direita).

## 2.2. PRÉ-TRATAMENTO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

O pré-tratamento da biomassa é uma etapa fundamental para se garantir um maior rendimento para o processo de extração de CNC, visto que a elevada estabilidade da matriz estrutural do material celulósico, além dos teores de umidade e lignina, dificultam o acesso dos agentes de hidrólise (KARP; WOICIECHOWSKI; SOCCOL; SOCCOL, 2013). Dessa forma,

o principal objetivo de se realizar um pré-tratamento sobre materiais celulósicos é o de garantir uma maior acessibilidade química aos polissacarídeos de interesse. Um pré-tratamento adequado deve também favorecer ao máximo a recuperação de outros componentes da biomassa como a lignina, que pode ser convertida a coprodutos de elevado valor agregado, além de apresentar um alto poder calorífico. De maneira geral, o pré-tratamento escolhido depende da composição química e da complexidade estrutural do material de partida, bem como dos tipos de produtos almejados para o processo (SILVEIRA; MORAIS; DA COSTA LOPES; OLEKSZYSZEN *et al.*, 2015).

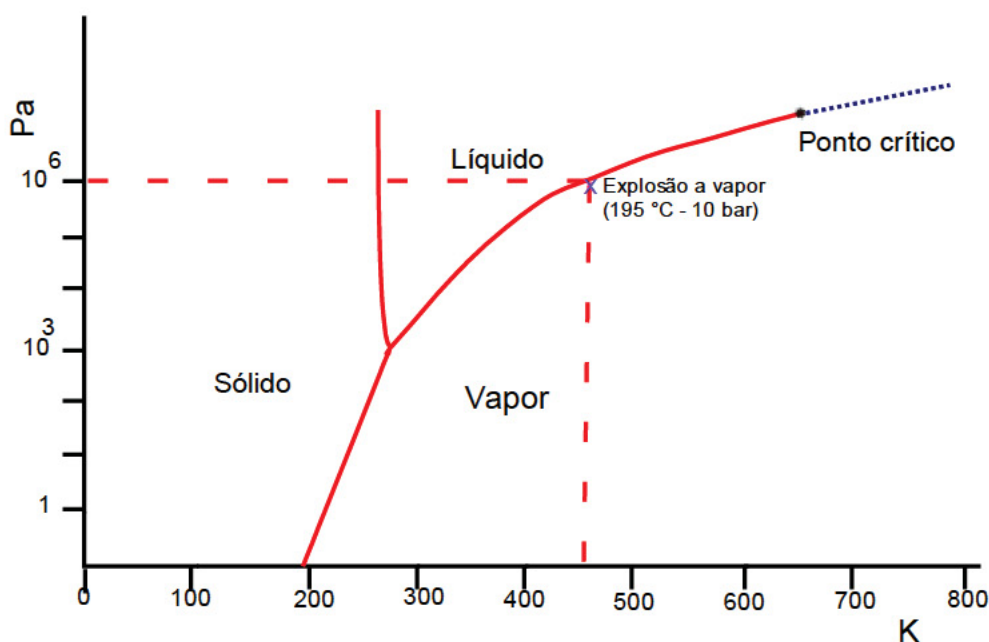
Como resposta às desvantagens da preparação comercial de nanocelulose por hidrólise ácida utilizando ácido sulfúrico (*e.g.*, baixo rendimento, reatores de alto custo, gastos excessivos de água, dificuldades na recuperação do ácido), houve um movimento nas últimas décadas para encontrar alternativas inovadoras a esse processo convencional. Dentre os métodos que já avançaram como opção sustentável e economicamente viável à produção de nanocelulose, podem ser citados a cavitação por ultrassom, a hidrólise enzimática, o emprego de antisolventes orgânicos, entre outros. Tais métodos não só se apresentam como alternativas com melhor custo-benefício, mas ainda visam promover um aperfeiçoamento da qualidade do nanomaterial produzido (*e.g.*, maior estabilidade térmica, em oposto à sua diminuição devido à sulfatação durante o tratamento com ácido sulfúrico). Por consequência, uma melhoria na produção de nanocelulose, utilizando matéria-prima sustentável e de baixo custo (materiais lignocelulósicos, por exemplo), garantiria uma aplicabilidade bem mais difundida do que a dependência sobre matérias-primas de alto valor agregado, como polpas celulósicas deslignificadas e celulose bacteriana. Entretanto, estes métodos alternativos, apesar de apresentarem bons resultados em laboratório, ainda dependem de esforços para que possam ser aplicados em larga escala.

#### 2.1.5 Explosão a vapor

A explosão a vapor é um processo de pré-tratamento que já se encontra estabelecido em escala industrial para a produção de etanol a partir de resíduos agrícolas e agroindustriais. Esse pré-tratamento promove a auto-hidrólise das hemiceluloses e de parte da lignina contida na biomassa ao submetê-la à vapores saturados em alta pressão e temperatura, seguido de uma expansão violenta do conteúdo do reator que caracteriza o fenômeno da explosão (BHATIA; GARLAPATI; CHANDEL, 2019; SEIDEL, 2019).

O diagrama de fases da FIGURA 13 permite visualizar a forma como mudanças de temperatura e pressão interferem no estado físico da matéria. Nas condições de temperatura e pressão empregadas na explosão a vapor (ponto marcado com X na FIGURA 13), o material lignocelulósico entra em contato com o vapor de água saturado por um tempo de 5 a 15 min, seguido de uma descompressão brusca à condição atmosférica. As moléculas de vapor d'água, à pressão e temperatura elevadas, penetram na estrutura da biomassa e, no momento da explosão, se expandem fazendo com que as interações intermoleculares que mantêm os componentes macromoleculares da fitobiomassa fortemente unidos se quebrem pela alta variação de pressão.

FIGURA 13 — DIAGRAMA DE FASES DA ÁGUA SIMPLIFICADO, ILUSTRANDO AS CONDIÇÕES DE TEMPERATURA, PRESSÃO E ESTADO DO MÉTODO DE EXPLOÇÃO A VAPOR



FONTE: O Autor (2020)

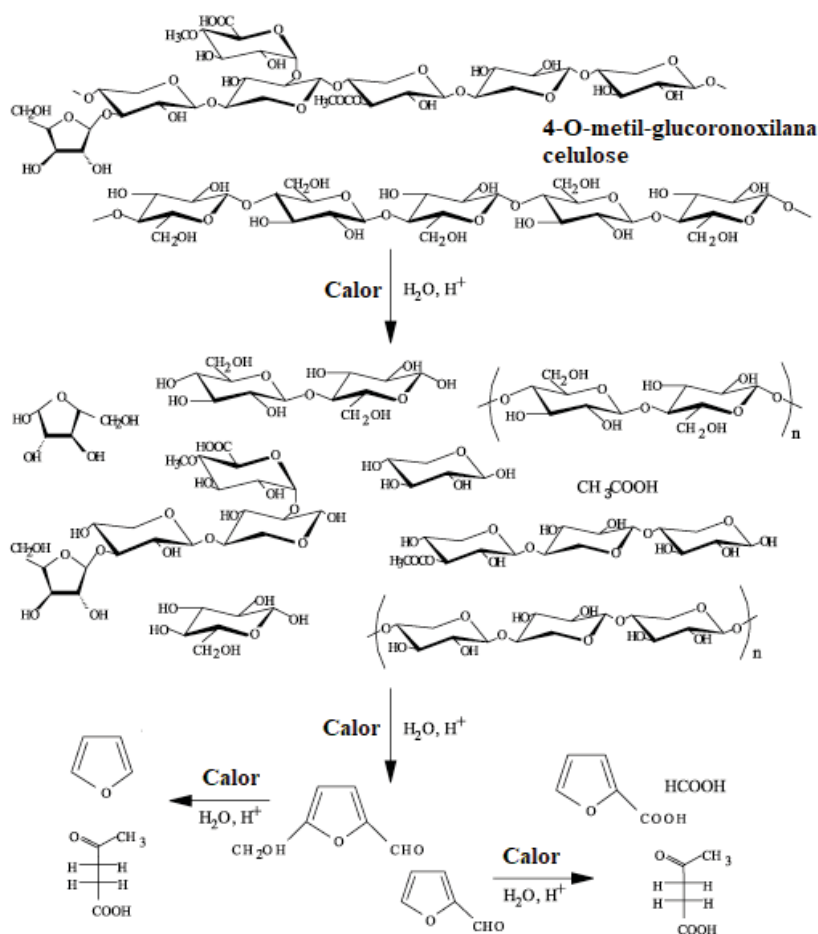
LEGENDA: No gráfico, X representa a condição realizada no presente trabalho.

Além do efeito mecânico causado na biomassa pela rápida descompressão, a temperatura e o tempo de residência no reator também promovem a hidrólise ácida, cuja extensão vai depender das condições do ensaio. Quando expostos à alta pressão e alta temperatura da explosão a vapor, os grupos acetila das hemiceluloses são hidrolisados formando ácido acético e esses fazem com que a concentração de íons hidrônio, responsável pela catálise da hidrólise de outros grupos da cadeia hemicelulósica, como arabinose e xilose, aumente de maneira significativa nos primeiros momentos da reação, garantindo uma hidrólise



significativa sem a necessidade de adição de catalisadores exógenos. Por essa razão, espécies que contenham um alto teor de grupos acetila em sua estrutura hemicelulósica, como é o caso do bagaço de cana-de-açúcar (3-5% de grupos acetil em sua composição), são excelentes para serem submetidos a processos de auto-hidrólise como a explosão a vapor (FIGURA 14).

FIGURA 14 — POSSÍVEIS REAÇÕES QUÍMICAS DURANTE O PERÍODO DE RESIDÊNCIA PREVIAMENTE A DESCOMPRESSÃO DURANTE A EXPLOSÃO A VAPOR



FONTE: Ramos (2003)

LEGENDA: (A) grupo susceptíveis nas hemiceluloses a ataque e liberação de ácido acético; (B) hidrólise das cadeias de hemicelulose; (C) desidratação de produtos de açúcares

Condições reacionais mais drásticas de explosão a vapor, envolvendo maior temperatura e tempo de reação, podem ocasionar reações paralelas com a formação de produtos indesejados, como furfural e 5-(hidroximetil)-furfural (MOOD; GOLFESHAN; TABATABAEI; JOUZANI *et al.*, 2013). Essas condições podem ainda levar esses produtos, provenientes da desidratação de pentoses e hexoses, respectivamente, a reações de condensação que formam estruturas aromáticas macromoleculares, insolúveis em água, que receberam a

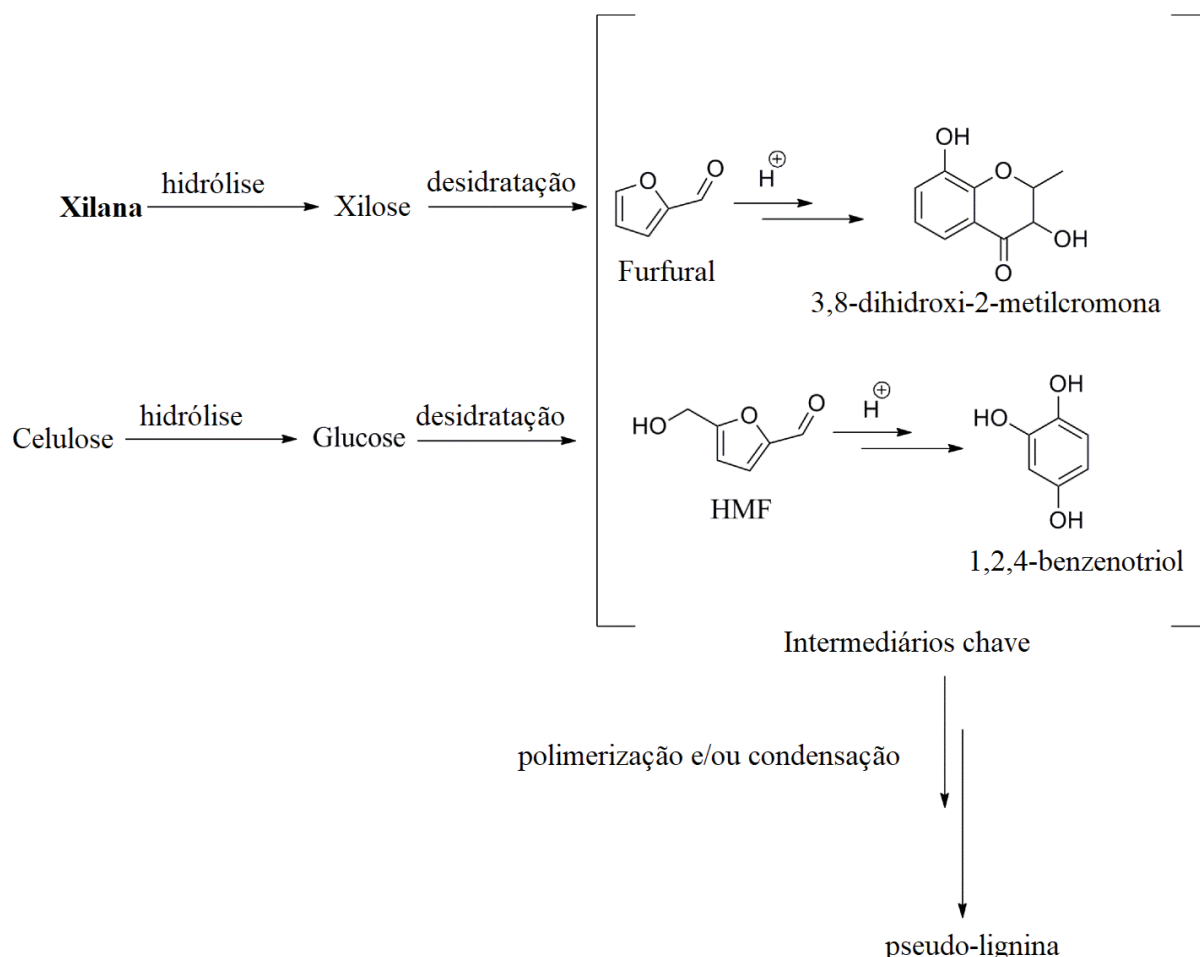
denominação de huminas. Por outro lado, alguns autores propuseram o termo pseudo-lignina para se referir a materiais de estrutura aromática condensada que são insolúveis em ácido diluído e que, portanto, contribuem para aumentar os valores de quantificação de lignina. Esse fato é particularmente importante para pré-tratamentos ácidos como a explosão a vapor, cujo efeito depende da severidade utilizada no procedimento experimental.

A formação desse material assim como a desidratação de açúcares está diretamente relacionada a severidade dos tratamentos empregados na biomassa. A pseudo-lignina é constituída por estruturas constituídas pelos grupos funcionais de carbonila, carboxila, aromáticos e alifáticos e é produzida a partir de açúcares liberados da celulose e hemicelulose. É geralmente aceito que o 5-hidrometilfurfural (HMF) e o furfural são os primeiros e principais produtos de desidratação de hexoses e pentoses, respectivamente (LI *et al.*, 2005). Outros rearranjos de HMF e/ou furfural para produzir outros compostos aromáticos foram sugeridos. Por exemplo, o 1,2,4-benzenotriol (BTO) foi gerado pela reação de abertura do anel hidrolítico do HMF com rendimentos de até 46% a 50% de conversão do HMF (LUIJKX *et al.*, 1993). Adicionalmente, 3,8-di-hidroxi-2-metilcromona (DMC) foi o principal componente aromático na degradação levemente ácida da d-xilose (POPOFF, THEANDER, 1972). Estes resultados sugerem BTO e DMC como intermediários chave para a formação de pseudo-lignina durante o pré-tratamento com ácido diluído. Os estágios de reação subsequentes envolvem reações de policondensação e/ou polimerização, pois o BTO pode reagir rapidamente com HMF e / ou furfural via substituição eletrofílica aromática para produzir um polímero tridimensional sob catálise ácida. Na presença de oxigênio, a polimerização oxidativa do BTO também pode resultar em uma estrutura semelhante ao poli(fenileno) (YAMAMOTO *et al.*, 1990). As vias de reação acima estão resumidas na FIGURA 15, que sugerem alta temperatura e a presença de ácido e oxigênio são as condições cruciais para a formação de pseudo-lignina durante o pré-tratamento com ácido diluído e indicam que temperatura mais baixa, menor concentração de ácido e / ou condição anaeróbica podem suprimir geração de pseudo-lignina durante o pré-tratamento.

O processo de explosão a vapor nas condições utilizando somente água, com temperatura de 195 °C e pressão de 10 bar, em tempos de 7 a 15 min é capaz de promover a auto hidrólise de praticamente toda a fração hemicelulósica, sem afetar significativamente a fração celulósica da biomassa (RAMOS, 2003b). Com as hemiceluloses hidrolisadas, a fração insolúvel em água passa a conter celulose e lignina parcialmente modificada e essa pode ser

posteriormente removida mediante a aplicação de um pós-tratamento alcalino ou pela extração com solventes orgânicos (MIHIRETU; CHIMPHANGO; GÖRGENS, 2019).

FIGURA 15 — REPRESENTAÇÃO: HIPOTESE DE REAÇÃO PARA FORMAÇÃO DE PSEUDOLIGNINA



FONTE: Traduzido de Shinde; Meng; Kumar e Ragauskas (2018)

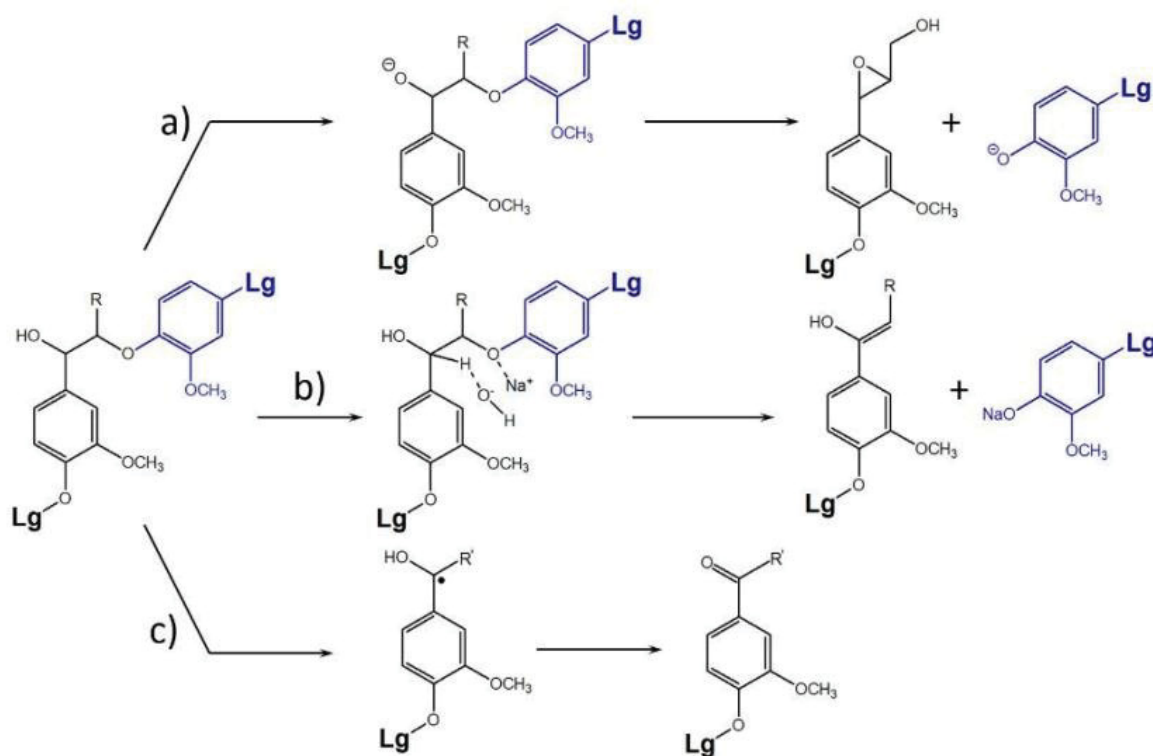
### 2.1.6 Deslignificação em meio alcalino

O tratamento alcalino causa a clivagem das ligações aril-éter, comprometendo a integridade estrutural da lignina e a sua interação com polissacarídeos. Após esse rompimento, o caráter fenólico dos fragmentos formados facilita a sua solubilização e remoção por filtração, possibilitando ainda a sua recuperação da fração líquida por precipitação ácida. Esse procedimento favorece os processos de hidrólise enzimática, visto que há um aumento substancial da superfície de contato e da porosidade do material celulósico resultante (CARVALHO *et al.*, 2015).



Os possíveis mecanismos de despolimerização da lignina utilizando meio aquoso alcalino aquecido estão apresentados na FIGURA 16. A despolimerização pode ocorrer via ataque nucleofílico e liberação de íons fenolato estabilizados em meio alcalino (rota a). A rota b, apesar de ser uma via heterolítica, não implica espécies iônicas livres. Já a rota c em si não descreve uma influência direta do NaOH na clivagem das ligações aril-éter, mas uma base ajudará a propagação da reação radicalar e na estabilização dos monômeros, diminuindo assim a repolimerização.

FIGURA 16 — REPRESENTAÇÃO DE POSSÍVEIS CAMINHOS DE REAÇÃO DO NaOH NA DESPOLIMERIZAÇÃO DA LIGNINA



LEGENDA: Rotas de despolimerização da lignina por três vias diferentes.

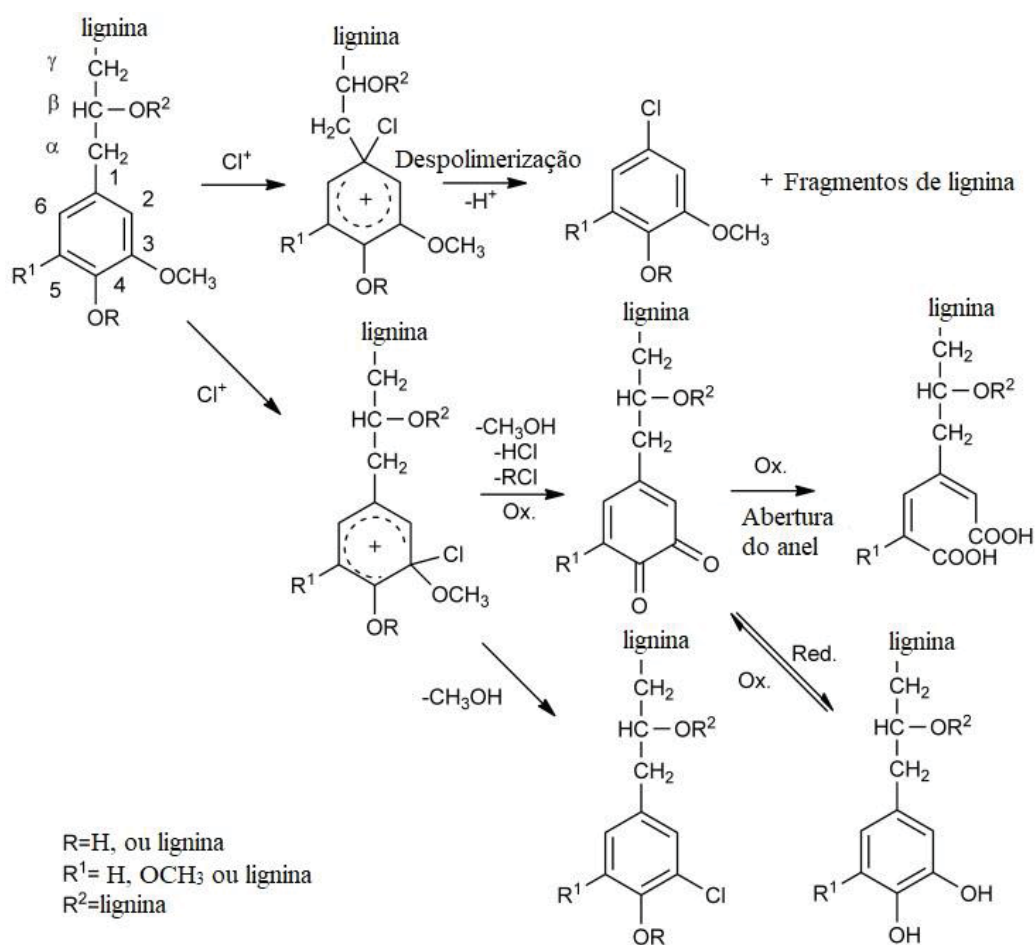
FONTE: Abad-Fernández; Pérez e Cocero (2019):

### 2.1.7 Branqueamento com hipoclorito de sódio

O método de branqueamento a base de cloro foi um dos primeiros a serem utilizados na indústria, sendo considerado o método mais clássico para a produção de papel e celulose por ser capaz de oxidar a lignina de maneira altamente eficiente. A FIGURA 17 apresenta um esquema de possíveis reações entre lignina e o íon clorônio (MA; XU; ZHANG, 2015). Após o tratamento com cloro é possível detectar a presença de materiais fenólicos não substituídos e

policlorados. Os íons clorônio, formados por clivagem heterolítica do cloreto, são as espécies reativas primárias durante a cloração da lignina. A presença de um grupo hidroxila na posição 4 dos anéis aromáticos favorece a sobreposição do par de elétrons não ligantes do átomo de oxigênio ao sistema de elétrons  $\pi$  do anel, resultando em uma densidade de elétrons relativamente mais alta nas posições orto e para. Essas posições são suscetíveis ao ataque de eletrófilos. A presença dessas regiões com densidade de carga parcial negativa pode promover oxidação por vários cátions, como  $\text{Cl}^+$  e  $\text{HO}^+$ , que são formados no processo de pré-tratamento com hipoclorito. Essas reações podem levar a formação de quinonas que fornecem uma densidade de carga positiva aos carbonos, fazendo com que esses sejam suscetíveis a novos ataques nucleofílicos que podem resultar na abertura do anel. Nas estruturas de lignina com uma ligação dupla alifática conjugada ao anel aromático, as posições com cargas parciais negativas também são estendidas ao carbono beta.

FIGURA 17 — POSSÍVEIS REAÇÕES ENTRE LIGNINA E HIPOCLORITO NO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO DA BIOMASSA



FONTE: Traduzido de Ma; Xu e Zhang (2015)

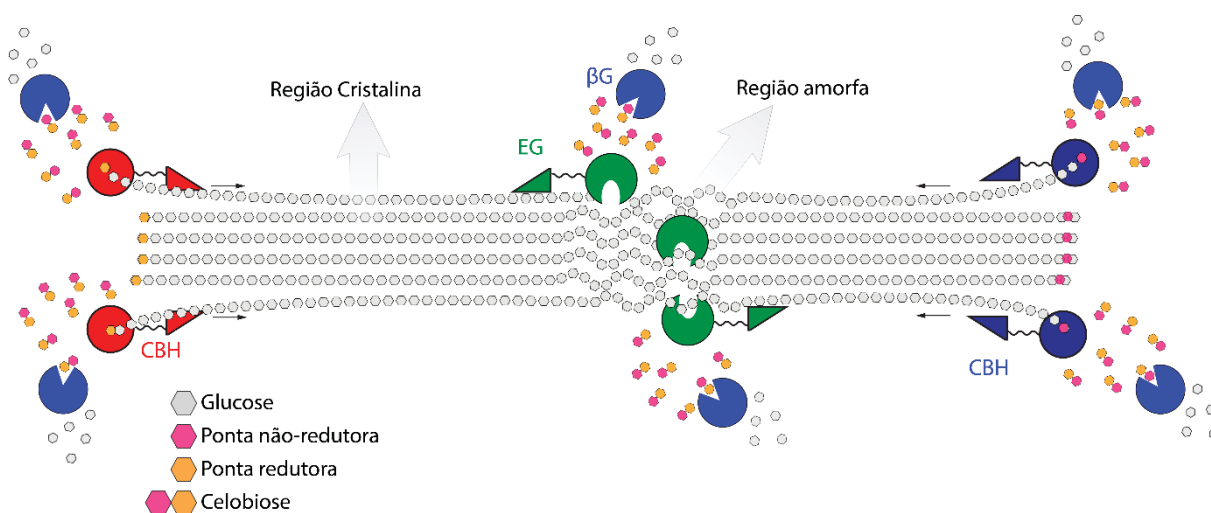
### 2.1.8 Hidrólise enzimática

O uso de enzimas reduz a formação de subprodutos indesejáveis ao mesmo que evita a degradação da glucose, que ocorre normalmente durante o processo de hidrólise ácida. Preparações celulásicas correspondem a complexos enzimáticos que contém várias enzimas como endoglucanases (EG), exoglucanases ou celobiohidrolases (CBH) e  $\beta$ -glucosidases (PRAJAPATI; PANCHAL; PAWAR; NORONHA *et al.*, 2018). As celulases são produzidas por diferentes microrganismos, como bactérias e fungos (e.g., *Trichoderma* sp.), tendo como principal função a despolimerização da celulose à glucose. A FIGURA 18 traz uma representação simplificada da ação enzimática de cada classe de enzimas (OGEDA; PETRI, 2010). As EGs (EC 3.2.1.4) atuam randomicamente nas regiões amorfas da celulose, hidrolisando ligações glicosídicas  $\beta$  do tipo (1,4). Sua atividade catalítica pode ser medida através da diminuição da viscosidade do meio, que é decorrente da diminuição do DP da celulose (LYND; WYMAN; GERNGROSS, 1999). As CBHs (EC 3.2.1.91) atuam nos terminais redutores e não redutores das cadeias de celulose liberando principalmente a celobiose, que pode ser detectada e quantificada por análise cromatográfica (LI; CONVERSE; WYMAN, 2003). Finalmente, as  $\beta$ -D-glucosidases (EC 3.2.1.21), cuja atividade catalítica pode ser medida por métodos cromatográficos ou espectrométricos, dependendo do substrato utilizado, catalisam a hidrólise da celobiose e de celodextrinas hidrossolúveis à glucose (WYMAN; DECKER; HIMMEL; BRADY *et al.*, 2005). Essas enzimas atuam de forma sinérgica ou cooperativa na hidrólise da celulose a açúcares simples, que, como dito anteriormente, podem ser fermentados a produtos de interesse comercial como etanol, butanol, ácidos orgânicos, aminoácidos, hidrocarbonetos e produtos macromoleculares (polímeros) como poli-hidroxialcanoatos, enzimas e proteína unicelular.

O sistema celulolítico secretado pelo fungo *T. reesei* é composto por pelo menos quatro endoglucanases (EGs I, II, III e IV) e duas celobiohidrolases (CBHs I e II). Enzimas destas duas classes agem sinérgicamente na degradação da celulose: as extremidades redutoras e não-redutoras geradas pelas EGs se tornam substratos para as CBHs. A CBH I ataca as extremidades redutoras da celulose enquanto a CBH II ataca as extremidades não-redutoras (SANDHU; MATHUR; GUPTA; PURI *et al.*, 2018). A atividade das CBHs é inibida na medida em que a concentração da celobiose aumenta no meio (XIAO; ZHANG; GREGG; SADDLER, 2004). Assim, as  $\beta$ -glucosidases, por transformarem a celobiose em glucose, potencializam a ação catalítica das CBHs. Além disso, as EGs agem especificamente nos domínios amorfos da

celulose e as CBHs agem nos domínios cristalinos, principalmente pela primeira apresentar um sítio catalítico na forma de fenda e a segunda apresentar um sítio catalítico na forma de túnel, por onde a cadeia de celulose deve penetrar (SANDHU; MATHUR; GUPTA; PURI *et al.*, 2018). Por isso, CBHs, EGs e  $\beta$ -glucosidades exibem grande sinergismo durante o processo de hidrólise da celulose.

FIGURA 18 — MODELO CLÁSSICO DE DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA DE CELULOSE



FONTE: O Autor (2019)

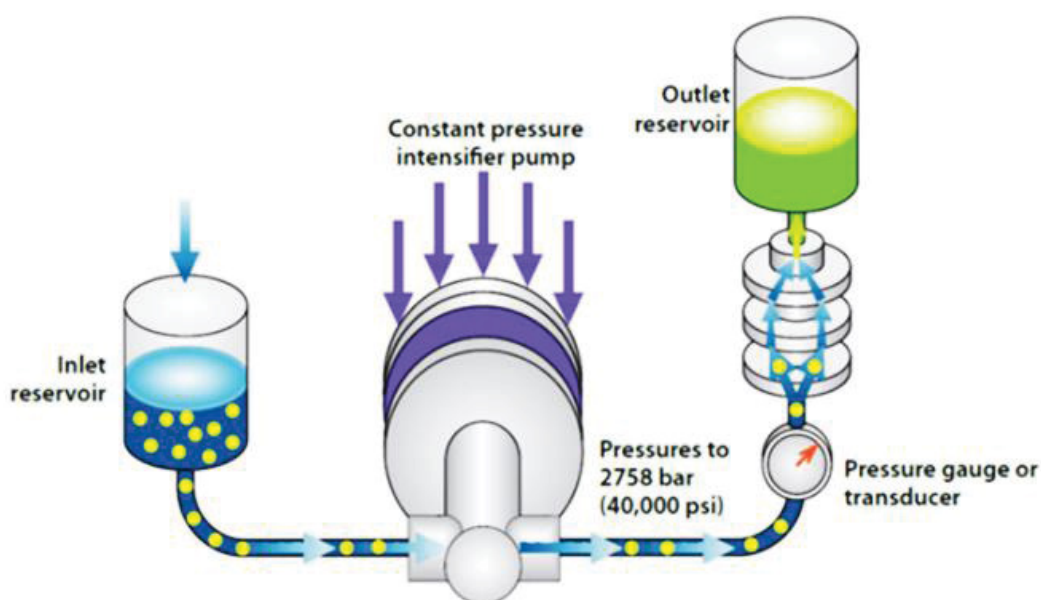
De acordo com revisões recentes sobre o tema (GOURLAY; VAN DER ZWAN; SHOURAV; SADDLER, 2018; KARGARZADEH; AHMAD; THOMAS; DUFRESNE, 2017; XIE; DU; YANG; SI, 2018)), o uso de celulasas como forma de pré-tratamento é considerado um dos métodos mais promissores para o escalonamento da produção de nanoceluloses. O preço da utilização de celulasas no pré-tratamento de materiais celulósicos, em condições otimizadas, é estimado em valores inferiores a US\$ 400 por tonelada de nanocelulose obtida (KARGARZADEH; AHMAD; THOMAS; DUFRESNE, 2017; XIE; DU; YANG; SI, 2018). Após o tratamento por celulasas, o material resultante apresenta maior área superficial, o que aumenta a eficiência dos métodos de pós-tratamento empregados para o isolamento de nanoceluloses. Essa melhoria na eficiência pode ter impacto positivo na redução dos gastos de energia, que foi de  $> 200 \text{ kW h kg}^{-1}$  para  $\leq 1 \text{ kW h kg}^{-1}$  na obtenção de CNF pelo método mecânico de *micro-gridding* (ZHOU; SAITO; BERGSTRÖM; ISOGAI, 2018). Outras vantagens da melhoria dos métodos de pós-tratamento também incluem redução da temperatura, do tempo de reação e da quantidade de reagentes necessários, além do aumento

do rendimento em massa, como no caso da obtenção de CNC por hidrólise com ácido sulfúrico diluído (de >120 min para <30 min, de 65 °C para <50 °C e de >30% para >65%, respectivamente) (BELTRAMINO; RONCERO; VIDAL; VALLS, 2018; DONG; BORTNER; ROMAN, 2016)

### 2.1.9 Homogeneização a alta pressão

O tratamento de homogeneização a alta pressão (HPH, do inglês *high pressure homogenization*) é uma tecnologia eficiente para refino de biomassa devido a sua simplicidade, alta eficiência e não exigência do uso de solventes orgânicos (LI; WEI; WANG; CHEN *et al.*, 2012). De maneira simplificada, equipamentos que utilizem o princípio HPH consistem no bombeamento por alta pressão (>2500 bar) de uma suspensão aquosa contendo as fibras através de capilares de diâmetros reduzido (<100 µm). Devido à alta pressão, as fibras são submetidas a forças de cisalhamento, fazendo que o seu diâmetro seja reduzido a cada passagem pelo capilar. Dependendo da severidade utilizada, como pressão e número de passagens, as fibras presentes na suspensão podem ser reduzidas a diâmetros inferiores a 10 nm (FIGURA 19).

FIGURA 19 — ESQUEMA SIMPLIFICADO DE HOMOGENEIZAÇÃO POR ALTRA PRESSÃO



FONTE: Islam; Rahman; Faruque e Islam (2018)

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL

O bagaço de cana-de-açúcar utilizado neste trabalho foi doado pela empresa Raízen® (Piracicaba, SP). Os demais reagentes foram adquiridos em grau analítico. Padrões, solventes e reagentes para análises cromatográfica e espectrométrica foram adquiridos na especificação exigida pelos métodos de análise. A preparação enzimática de atividade endoglucanásica (Novozyme 476), usada nos procedimentos de hidrólise, foi fornecida pela empresa Novozymes (Dinamarca).

#### 3.2 MÉTODOS

##### 3.2.1 Explosão a vapor

O pré-tratamento por explosão a vapor do bagaço de cana-de-açúcar foi realizado em instalação própria localizada no campus do Centro Politécnico da UFPR. A condição adotada foi a de auto-hidrólise, ou seja, sem a adição de catalisadores exógenos. O bagaço de cana utilizado no procedimento continha 50% de umidade e foi utilizado conforme recebido, ou seja, sem nenhum tratamento ou refino. Os ensaios foram realizados em um reator de aço inox com capacidade de 10 L, equipado com sensores para controle da temperatura e do tempo de reação e alimentado com vapor fornecido por caldeira de alta pressão. As condições reacionais adotadas foram baseadas em estudos preliminares de Pitarelo *et al.* (2016), 1 kg de bagaço de cana foi submetido a tratamento de explosão empregando temperatura de 195 °C, pressão de 10 bar, tempos de reação de 7,5 e 15 min. Após a explosão a vapor, todo o material coletado na saída do reator foi centrifugado para separação das fibras pré-tratadas da fração solúvel em água (ou hidrolisado). A fração sólida foi lavada com água a um teor de sólidos totais de 10% (m v<sup>-1</sup>) por 1 h sob agitação mecânica na temperatura ambiente. Essa suspensão foi centrifugada novamente e os sólidos pré-tratados foram armazenados sob vácuo e refrigeração para análise de sua composição química, e para utilização nos experimentos de hidrólise enzimática.

### 3.2.2 Refino mecânico

Um processo de refino mecânico foi realizado para o bagaço nativo. O bagaço foi primeiramente processado em moinho (Sprout Waldrount, Girona, Espanha) e refinado a seguir por 4 mil rotações em refinador mecânico (PFI, Girona, Espanha). O refinamento mecânico teve por objetivo aumentar a área superficial das fibras, fazendo com que o substrato ficasse mais suscetível à hidrólise enzimática. O bagaço explodido a vapor não apresentou resistência mecânica compatível com o processo de refino mecânico. Portanto, esses materiais, obtidos em ambas as condições (195 °C por 7,5 e 15 min), seguiram para o processo de deslignificação e branqueamento sem nenhum procedimento adicional após a explosão a vapor senão a lavagem aquosa descrita anteriormente.

### 3.2.3 Deslignificação

O processo de deslignificação foi feito em amostras de biomassa recuperada após o processo de explosão a vapor e em amostras que não foram submetidas a esse processo, de acordo com a metodologia descrita por Rocha *et al.* (2012). O material lignocelulósico foi tratado em uma solução contendo 25 g de NaOH para cada 100 g de massa seca de substrato a 80 °C usando 5% de sólidos totais, mantendo uma agitação vigorosa e constante por um período de 1 h.

O material celulósico parcialmente deslignificado foi também submetido a um tratamento com hipoclorito de sódio (8 g para cada 100 g de material) a 70 °C por 60 e 180 min, também a 5% de sólidos totais. Foram produzidos materiais a partir de 2 condições diferentes: 1 e 3 h de tratamento. Para o processo de 3 h foram adicionados mais 8 g de hipoclorito ao final da primeira e da segunda hora. Posteriormente, a reação foi interrompida com adição de água a temperatura ambiente para diluição, seguido de exaustiva lavagem até neutralização do pH.

### 3.2.4 Hidrólise enzimática e homogeneização por alta pressão

Os processos de hidrólise enzimática foram realizados com uma carga de 320 g de proteína por tonelada de substrato, a 50 °C e pH 4,8, empregando a enzima Novozyme 476 (Novozymes) como descrito na metodologia proposta por Tarrés *et al.* (2016). O pH foi mantido



pela adição de 0,05 mol L<sup>-1</sup> de acetato de sódio e 0,05 mol L<sup>-1</sup> de ácido acético, descontado o volume correspondente à preparação enzimática.

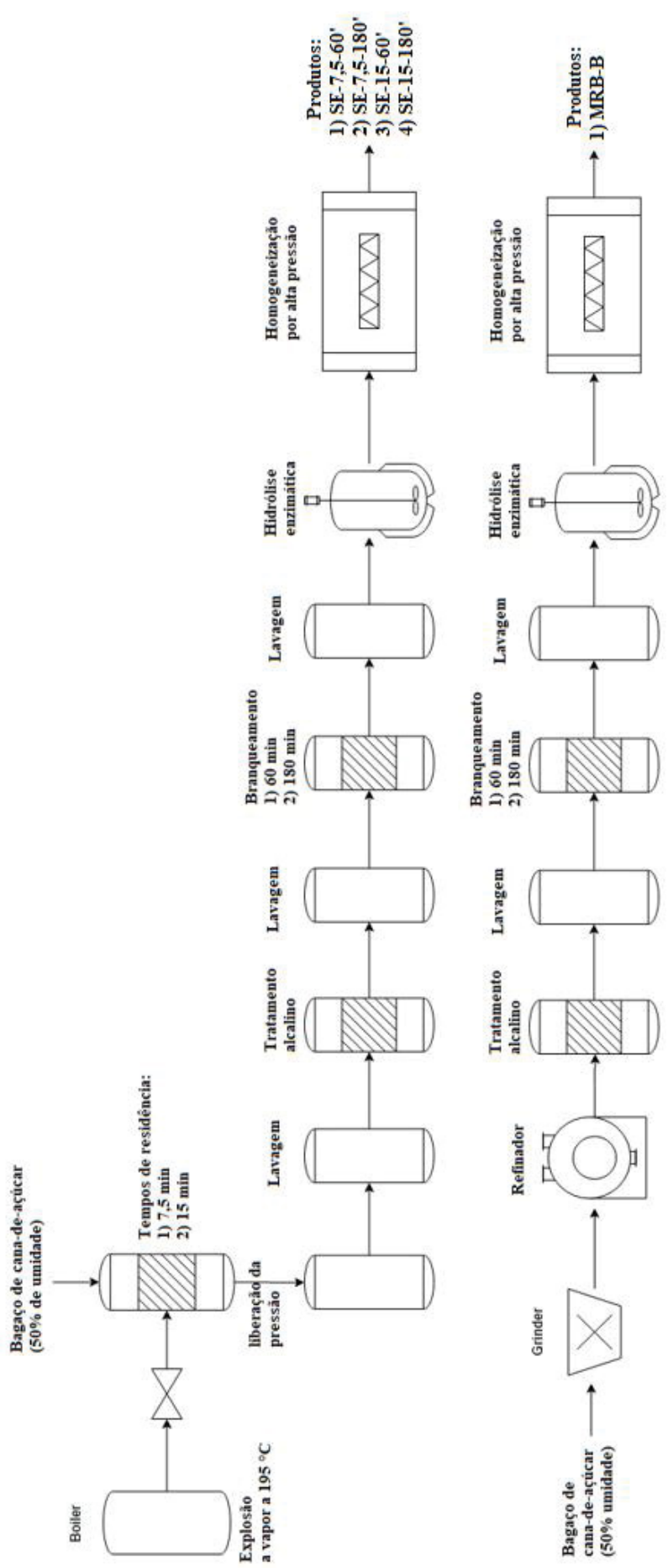
As reações enzimáticas foram realizadas em uma consistência de 2,5% em reator com capacidade para 5 L empregando 100 g de substrato (massa seca). A enzima foi adicionada 10 min depois de o reator ter atingido a temperatura selecionada. O tempo de hidrólise foi estabelecido em 3 h a partir de experimentos realizados com bagaço de cana de açúcar branqueado por deslignificação alcalina seguida de tratamento com hipoclorito de sódio por 3 h. Após esse tempo, a ação enzimática foi interrompida por aquecimento a 80 °C seguido da adição de hidróxido de sódio até pH 10. O material coletado foi centrifugado e lavado com água até pH neutro.

Uma solução a 1% de consistência, preparada a partir do substrato hidrolisado, foi passada por homogeneizador PANDA Plus 2000 (Gea Niro Soavi, Italy) por 9 vezes (3 vezes a 300 bar, 3 vezes a 600 bar e 3 vezes a 900 bar) até que se obtivesse uma suspensão homogênea semelhante a gel de acordo com a metodologia descrita por Tarrés *et al.* (2016). As suspensões obtidas foram mantidas a 4 °C até a análise. Um diagrama simplificado do processo global é ilustrado na FIGURA 20.

### 3.2.5 Determinação da composição química dos substratos nativos e pré-tratados

Os procedimentos de determinação da composição química foram realizados de acordo com as recomendações do Laboratório Nacional de Energias Renováveis (NREL - *National Renewable Energy Laboratory*) dos Estados Unidos. A determinação da massa seca do material nativo e dos materiais pré-tratados foi realizada em balança de infravermelho a 105 °C até massa constante. A quantidade de cinzas foi determinada em mufla a 575 °C por 4 h, segundo o procedimento descrito por Sluiter *et al.* (2008b) (NREL/TP-510-42622). Os extraíveis foram obtidos a partir de um processo de extração em Soxhlet, primeiramente com água (16 h) e depois com etanol (95%) por cerca de 24 h, de acordo com o procedimento de Sluiter *et al.* (2008d) (NREL/TP-510-42619).

FIGURA 20 — DIAGRAMA DE PROCEDIMENTOS GERAIS PARA OBTEN AMOSTRAS HOMOGENIZADAS POR ALTA PRESSÃO



FONTE: O Autor (2019)

A composição química dos materiais celulósicos foi caracterizada por meio de hidrólise com ácido sulfúrico 72% (v v<sup>-1</sup>) por 1 h a 30 °C. Em seguida, o material foi diluído a uma concentração de 3% (v v<sup>-1</sup>) e condicionado a 121 °C por 1 h para posterior filtragem em cadinho de vidro sinterizado de porosidade média. O teor de lignina insolúvel em meio ácido dos materiais celulósicos foi determinado pela massa retida no cadinho e a lignina solúvel em ácido foi quantificada por espectroscopia no ultravioleta, utilizando os comprimentos de onda de 240 e 320 nm (SLUITER *et al.*, 2012) (NREL/TP-510-42618). A composição em carboidratos dos substratos celulósicos e seus respectivos produtos de desidratação foram determinados nos hidrolisados ácidos resultantes utilizando um sistema cromatográfico em fase líquida Shimadzu modelo LC10AD. Esse sistema é provido de amostrador automático SIL10A, desgaseificador de fase móvel modelo DGU 14A, forno de aquecimento de coluna modelo CTO 10A e de detectores nos modelos RID10A para índice de refração e SPD-M10Avp para espectrofotometria no ultravioleta. A análise será realizada em coluna Hi-Plex H (Agilent, 300 x 7,7 mm) a 65 °C, precedida por pré-coluna Hi-Plex H (Agilent, 50 x 7,7 mm) e eluída com fase móvel H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 mmol L<sup>-1</sup> a uma vazão de 0,6 mL min<sup>-1</sup> (RAMOS; FONTANA, 2004). As quantificações foram efetuadas por padronização externa, com base em curvas de calibração construídas para cada componente monitorado (celobiose, glucose, xilose, arabinose e ácido acético), levando-se em conta seus respectivos fatores de hidrólise ácida, que serviram para converter cada componente em seu respectivo derivado anidro: 0,95 para a celobiose, 0,90 para a glucose, 0,88 para xilose e arabinose e 0,98 para o ácido acético.

### 3.2.6 Demanda catiônica

A determinação da demanda catiônica das CNF produzidas foi realizada de acordo com (DELGADO-AGUILAR; GONZÁLEZ; TARRÉS; ALCALÀ *et al.*, 2015). O ensaio foi realizado por titulação coloidal usando um equipamento Mu tek PCD04 da BTG (Reino Unido). Essa titulação foi realizada por adsorção superficial com cloreto de poli-dialildimetilamonio (poli-DADMAC, com Mw de 200000 a 350000 g mol<sup>-1</sup> da Sigma-Aldrich) e o excesso foi titulado com poli-ariletersulfona sódica (PES-Na, com Mw médio de 70000 g mol<sup>-1</sup> da Sigma-Aldrich), um polímero aniônico padrão, ambos da BTG.

### 3.2.7 Microscopia eletrônica de transmissão

Gotas das suspensões a  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  das nanofibras foram depositadas em grades de microscopia eletrônica de transmissão (TEM, do inglês *Transmission Electron Microscopy*) revestidas com carbono. Após 60 min, o líquido em excesso foi absorvido com papel de filtro e deixado secar. As análises foram realizadas nos laboratórios da Fiocruz (Curitiba, Paraná) usando um microscópio eletrônico de transmissão Jeol JEM-1400 Plus com uma voltagem de aceleração de 100 kV. As imagens foram gravadas com uma câmera TVIPS F216 TemCam (2040 x 2040 px) e processadas usando o software ImageJ.

### 3.2.8 Perfil de viscosidade

As propriedades reológicas das suspensões de nanofibras foram medidas usando um viscosímetro (Brookfield® LDVD-IIIU) em temperatura de 18 a 25 °C. A viscosidade no estado estacionário foi realizada em uma faixa de taxas de cisalhamento de 0,01 a 1000  $\text{s}^{-1}$ . A suspensão foi analisada na concentração de 10  $\text{mg mL}^{-1}$ .

A razão de aspecto ( $f$ ) das nanofibras presentes no bagaço refinado mecanicamente e explodido a vapor foi prevista a partir da viscosidade intrínseca  $[\eta]$  (contribuição de partículas individuais para a viscosidade total da suspensão), de acordo com a Equação 2 descrita por Simha (1940).

$$[\eta] = \frac{f^2}{15 (\ln 2f - 1.5)} + \frac{f^2}{5 (\ln 2f - 0.5)} + \frac{14}{15} \quad (\text{Eq. 2})$$

Os valores de  $[\eta]$  foram determinados por medidas de viscosidade para suspensões diluídas de MRB-B e SE usando as Equações 3 e 4 de Huggins e Kraemer (HUGGINS, 1942; KRAEMER, 1938), respectivamente,

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k_1[\eta]^2c \quad (\text{Eq. 3})$$

$$\frac{\ln \eta_{rel}}{c} = [\eta] + k_2[\eta]^2c \quad (\text{Eq. 4})$$

onde  $k_1$  é a constante de Huggins,  $k_2$  é a constante de Kraemer,  $c$  é a concentração das fibras,  $\eta_{sp}$  é a viscosidade específica e  $\eta_{rel}$  é a viscosidade relativa. Esses últimos dois valores foram calculados pelas seguintes equações:

$$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \quad (\text{Eq.5})$$

$$\eta_{rel} = \frac{\eta}{\eta_0} \quad (\text{Eq. 6})$$

onde  $\eta$  é a viscosidade das suspensões das fibras MRB-B e SE e  $\eta_0$  é a viscosidade da água deionizada. Através da plotagem dos dois gráficos de (1)  $\ln \eta_{rel}/c$  e (2)  $\eta_{sp}/c$  vs concentração das fibras foi possível determinar o  $[\eta]$  pela média das duas intercepções. Finalmente, ao plotar  $[\eta]$  vs  $f$  (função Simha) foi possível correlacionar os valores de viscosidade com a proporção entre o diâmetro e comprimento das fibras em suspensão.

### 3.2.9 Difração de raios X

As medidas de difração de raios X (XRD) foram realizadas em difratômetro Shimadzu XRD 6000, operando a 40 kV e 30 mA com radiação Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 0,15418$  nm). As amostras liofilizadas foram posicionadas em suporte de alumínio e as medidas foram realizadas para estimar a cristalinidade como descrito por Chen *et al.* (2007). Os dados foram coletados no modo de reflectância na faixa de 10-40 ° de  $2\theta$  com 0,5 ° min<sup>-1</sup>. Os difratogramas foram ajustados com o modelo gaussiano utilizando o software Fityk 0.8.0. O índice de cristalinidade (CrI, %) foi calculado usando a Equação 7 (HERMANS; HERMANS; VERMAAS; WEIDINGER, 1946),

$$CrI (\%) = 100 \times \frac{A_c}{A_t} \quad (\text{Eq. 7})$$

onde  $A_c$  corresponde à área cristalina total e  $A_t$  é a área total (amorfa e cristalina) sob os difratogramas.

### 3.2.10 Formação de papeis

Para a fabricação de folhas de papel, utilizou-se polpa celulósica *kraft* de *Eucalyptus* sp. A polpa foi suspensa em água ( $10 \text{ g L}^{-1}$ ) e depois refinada em homogenizador mecânico por 30 min. Essa suspensão foi utilizada para produzir corpos de prova contendo a incorporação de 1,3 e 5% em massa de celulose nanofibrilada, além de amostras controle preparadas sem a adição de nanoceluloses. Cinco folhas foram produzidas para cada tratamento, com gramatura seca de  $60 \pm 3 \text{ g m}^{-2}$ , em aparelho RapidKöethen com temperatura de secagem de  $90 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$  e pressão de 40 Kpa. Após secagem, os corpos de prova foram aclimatados seguindo o padrão TAPPI T402-om94, na temperatura de  $23 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $50 \pm 2\%$ , antes da realização dos testes físicos e mecânicos.

Os corpos de prova aclimatados foram testados para determinar propriedades físicas como teor de umidade (TAPPI T412-om02), gramatura (TAPPI T410-om02) e densidade aparente (TAPPI T220-sp01), e propriedades mecânicas como resistência à tração (TAPPI T404-om92), resistência à ruptura (TAPPI T403-om02) e resistência ao rasgo (TAPPI T414-om98). O índice de tração, expresso em  $\text{N m g}^{-1}$ , foi determinado pela razão entre a resistência à tração e a massa da amostra. Já o índice de ruptura, expresso em  $\text{kPa m}^2 \text{ g}^{-1}$ , foi calculado pela razão entre a resistência à ruptura e a massa da amostra. Os valores das propriedades mecânicas dos corpos de prova foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a nível de confiabilidade de 95%.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS BIOMASSAS

Inicialmente, a composição química do bagaço de cana-de-açúcar foi caracterizada em relação aos seus teores de carboidratos, lignina, cinzas e extraíveis (TABELA 3). Foram detectadas as presenças de 63,9% de carboidratos (glucanas e xilanas), 21,0% de lignina (solúvel e insolúvel em ácido), 4,2% de extraíveis e 2,8% de cinzas. Foi adicionalmente listada na tabela uma comparação com dados da literatura. A maioria dos bagaços de cana comparados foram coletados no Brasil, além de um exemplo da Índia, um da Suécia e um da Malásia.

Em comparação com dados de literatura, em relação aos carboidratos, todas as referências apresentam grande semelhança ou baixa variação ( $40 \pm 5\%$ ), com exceção ao trabalho de HOAREAU; TRINDADE; SIEGMUND; CASTELLAN *et al.* (2004), que apresentou 55% de glucanas e 16% de hemiceluloses. A lignina não apresentou diferenças significativas entre todos os grupos comparados ( $20 \pm 5\%$ ), com exceção do trabalho de SILVA; INOUE; ENDO; YANO *et al.* (2010).

Em relação a cinzas, foi verificada uma grande variação nos dados (2 a 7%) assim como no teor de extraíveis (1,6 a 7%). Essas diferenças se dão em conta das impurezas presentes nas amostras, normalmente devidas ao processo de colheita e ao processamento para extração do caldo rico em sacarose, além de outros fatores como a origem do cultivar, suas condições de cultivo e época de colheita, variações consideradas normais para qualquer tipo de espécie vegetal (BOE; LEE, 2007; HOFFER; GELENCSE; BLAZSO; GUYON *et al.*, 2006; QIN; THUNMAN, 2015; VASSILEV; BAXTER; ANDERSEN; VASSILEVA, 2010).

O bagaço de cana-de-açúcar foi então submetido a diferentes tratamentos para obtenção de nanoceluloses, sendo eles o grupo mecanicamente refinado (MRB-B) e os grupos explodidos a vapor por 7,5 (SE-7,5) e 15 min (SE-15). Na TABELA 4 está presente a quantificação de glucanas, grupo acetil, xilanas, resíduos de arabinosil, lignina solúvel e insolúvel em ácido, cinzas e extraíveis para o grupo MRB-B antes e após as etapas de deslignificação por NaOH e branqueamento por NaOCl, comparativamente à composição do bagaço de cana-de-açúcar.



Referência	Componentes (%)					Local	
	Glucana	Hemicelulose	Lignina	Cinzas	Extraíveis		Total
Esse trabalho	40,6 ± 1,8	26,1 ± 1,4	21,0 ± 1,5	2,8 ± 0,3	4,2 ± 0,5	94,67 ± 3,4	Brazil - SP
Hoerau; Trindade; Siegmund; Castellán <i>et al.</i> (2004)	55,2	16,8	25,3	1,1	-	98,4	Brazil
Carrasco; Baudel; Sendelius; Modig <i>et al.</i> (2010)	43,4	28,3	22,8	1,9	1,6	98	Brazil - PE
Silva; Inoue; Endo; Yano <i>et al.</i> (2010)	38,8 ± 0,7	26,0 ± 0,4	32,4	2,8 ± 0,9	-	100	Brazil - SP
Krishna; Prasanthi; Chowdary e Ayyanna (1998)	40,1 ± 0,2	31,1 ± 0,1	19,1 ± 0,5	1,0 ± 0,2	9,2 ± 0,1	100,5	India - AP
Maeda; Serpa; Rocha; Mesquita <i>et al.</i> (2011)	34,1 ± 1,2	29,6 ± 1,4	19,4 ± 0,4	7,9 ± 1,1	-	91	Brazil - SP
Monavari; Galbe e Zacchi (2011)	40,9	32,2	22,9	3,9	-	99,9	Suécia - Sveg
Moraes Rocha; Martin; Soares; Maier <i>et al.</i> (2011)	45,5 ± 1,1	27,0 ± 0,8	21,1 ± 0,9	2,2 ± 0,1	4,6 ± 0,3	100,4	Brazil - SP
Velmurugan e Muthukumar (2012)	43,1 ± 1,4	25,2 ± 1,9	22,9 ± 1,1	2,8 ± 1,4	4,3 ± 1,6	98,3	Brazil - Nordeste
Yoon; Ang; Ngoh e Chua (2012)	35,6	26,6	17,1	-	-	79,3	India
Saad; Oliveira; Cândido; Quintana <i>et al.</i> (2008)	41,0	30,1	21,2	0,7	7,0	100,0	Malásia, Johor
Silva; Inoue; Endo; Yano <i>et al.</i> (2010)	37,7	27,2	20,5	6,53	4,01	94,94	Brazil - SP
Szezerbowski; Pitarello; Zandoná Filho e Ramos (2014)	38,0 ± 0,1	25,7 ± 0,2	20,8 ± 0,3	6,5 ± 0,2	-	98,8	Brazil - SP

TABELA 4 — COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO BAGAÇO MECANICAMENTE REFINADO APÓS HOMOGENEIZAÇÃO POR ALTA PRESSÃO

Componentes (%)	Bagaço	MRB-B	
		NaOH	NaOCl 180°
Glucana	40,6 ± 1,8	53,2 ± 1,3	53,8 ± 1,2
Acetil	2,8 ± 0,1	n.d	n.d
Xilana	21,7 ± 1,3	18,4 ± 0,3	19,7 ± 1,4
Arabinosil	1,57 ± 0,05	1,5 ± 0,1	n.d
Lignina solúvel em ácido	0,02 ± 0,01	2,1 ± 0,2	5,6 ± 0,1
Lignina insolúvel em ácido	21,0 ± 1,5	10,2 ± 0,1	6,0 ± 0,2
Cinzas	2,8 ± 0,3	8,1 ± 0,6	5,5 ± 0,5
Extraíveis	4,2 ± 0,5	n.d	n.d

LEGENDA: n.d., não detectado

Após o refino mecânico do bagaço (MRB-B), não foi verificado nenhuma alteração na sua composição química. Já a etapa de deslignificação com NaOH forneceu uma recuperação mássica de 65,1% (base seca). Conforme a TABELA 4, o material recuperado apresentou aumento no percentual de glucanas, que está diretamente relacionado à diminuição dos teores de lignina e da fração hemicelulósica, bem como à preservação da fração celulósica, que foi pouco afetada pelo processo de deslignificação alcalina (GIRI; ADHIKARI, 2013). Durante esse processo, a lignina sofre despolimerização e os fragmentos liberados são solubilizados em meio alcalino na forma de fenolatos, que são subsequentemente removidos por filtração e lavagem. Assim, a lavagem alcalina foi capaz de remover 45,5% da lignina presente no material de origem.

A fração sólida recuperada apresentou um aumento na relação entre lignina solúvel e lignina insolúvel em ácido provavelmente devido à reprecipitação de fragmentos despolimerizados que não foram removidos mesmo após lavagem exaustiva com água (100 g de biomassa para 100 L de água). Assim, entende-se que o teor remanescente de lignina solúvel em ácido poderia ser reduzido por meio da introdução de etapas adicionais de lavagem alcalina seguida de água.

Em relação à composição da fração hemicelulósica, os grupos acetil foram os mais significativamente afetados, sendo que a sua presença não foi mais detectada após o procedimento (TABELA 4). O tratamento alcalino também causou um decréscimo no teor de xilanas, de 21,7 ± 1,3 % para 18,4 ± 0,3 %. Esperava-se também um efeito maior sobre a presença de resíduos arabinosil ligados à cadeia principal, mas isso não foi necessariamente observado. Provavelmente, essa tendência foi devida a dificuldades na integração do pico da

arabinose em análises por HPLC, fato que ainda deverá ser confirmado por meio de análises complementares.

Após os procedimentos de deslignificação (NaOH) e branqueamento (NaOCl) não foi realizada a determinação de extraíveis, visto que a drasticidade desses tratamentos resultaria na remoção integral desse componente. Já a quantidade de cinzas presente na biomassa foi aumentada provavelmente pela dificuldade de remoção de sais de sódio que permaneceram retidos na matriz, mesmo após lavagem exaustiva com água.

Após o procedimento de deslignificação com NaOH, foi realizado o branqueamento utilizando NaOCl por 60 e 180 min. Em 60 min de reação, os teores de lignina solúvel e insolúvel em ácido não foram alterados e não foi possível observar um branqueamento efetivo da polpa. Já em 180 min, o rendimento mássico de deslignificação foi de 60% e a massa recuperada apresentou um aumento no teor de glucanas e uma redução na quantidade de lignina insolúvel em ácido (50%), acompanhado por um aumento do teor de lignina solúvel em ácido (TABELA 4). Assim, o processo de branqueamento promoveu uma maior exposição das fibras, diminuindo a sua recalcitrância para processos de desfibrilação mecânica e hidrólise enzimática. Logo, processos de branqueamento geralmente são necessários para aumentar a eficiência em processos de obtenção de nanoceluloses e também foi optado no presente trabalho.

O bagaço de cana-de-açúcar foi também submetido a tratamento pela técnica de explosão a vapor nos tempos de 7,5 e 15 min. Os dados da composição química dos bagaços explodidos, assim como das etapas posteriores de deslignificação por NaOH e branqueamento por NaOCl estão apresentados na TABELA 5. Após a etapa de explosão a vapor, para ambos os tempos, foi recuperado aproximadamente 57% de massa de bagaço. A explosão a vapor afeta principalmente as hemiceluloses. A alta temperatura promove a hidrólise de grupos acetil formando ácido acético, que causa um grande aumento na concentração de íons hidrônio que por sua vez catalisam a hidrólise da estrutura hemicelulósica (auto-hidrólise). Assim, após a lavagem, o material resultante passou a ser composto majoritariamente por celulose e lignina residual. Os dados de composição química também revelaram que os materiais submetidos à explosão a vapor foram deslignificados em maior proporção e isso se deve principalmente à remoção das hemiceluloses por hidrólise ácida e a coalescência da lignina em fragmentos passíveis de extração em meio alcalino.

TABELA 5 — COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO BAGAÇO EXPLODIDO A VAPOR POR 7,5 E 15 min APÓS HOMOGENEIZAÇÃO POR ALTA PRESSÃO

Componentes (%)	SE-7,5'			SE-15'		
	Nenhum tratamento	NaOH	NaOCl	Nenhum tratamento	NaOH	NaOCl
			60' 180'		60' 180'	
Glucanas	56 ± 1,1	77,2 ± 1,2	87,8 ± 1,1 84,3 ± 0,4	49,0 ± 1,3	78,7 ± 0,6	85,9 ± 1,2 82,2 ± 2,1
Xilanas	3,4 ± 0,2	2,9 ± 0,1	n.d n.d	2 ± 0,3	1,4 ± 0,1	n.d n.d
Lignina solúvel em ácido	0,5 ± 0,1	1,1 ± 0,1	2,5 ± 0,1 2,1 ± 0,1	0,5 ± 0,1	1,1 ± 0,1	2,1 ± 0,1 2 ± 0,1
Lignina insolúvel em ácido	32,5 ± 1,2	7,1 ± 0,3	4,7 ± 0,2 2,7 ± 0,2	40,8 ± 1,4	7,2 ± 0,5	4,2 ± 0,5 3 ± 0,2
Cinzas	3,2 ± 0,1	7,3 ± 0,2	3,1 ± 0,1 7,2 ± 0,3	4,2 ± 0,5	7,6 ± 0,6	4,2 ± 0,5 8,9 ± 0,3
Extraíveis	--	--	-- --	--	--	-- --
Rendimento mássico	57,1 ± 4,1	--	31,9 ± 4,3 31,4 ± 5,8	57,4 ± 6,2	--	31,9 ± 4,9 30,2 ± 6,6

\* LEGENDA: n.d., não detectado pelo limite de detecção mínimo do equipamento; --, não realizado.

Foi possível observar uma redução drástica do conteúdo de hemiceluloses, observando-se a completa remoção dos grupos acetil e arabinosil em ambas as condições, sendo detectados apenas traços de xilana, com redução de 85% e 91% para SE-7,5' e SE-15', respectivamente (TABELA 5), quando comparado com o conteúdo do bagaço *in natura*. Também como resultado da remoção da fração hemicelulósica, é possível observar um aumento no teor de glucanas em ambos os grupos (7,5 e 15 min). A recuperação de glucanas foi de 82% e de 73% para SE-7,5' e SE-15', respectivamente, indicando que os processos realizados com maior índice de severidade podem resultar em perdas significativas da fração celulósica.

A lignina foi pouco afetada para ambos os tempos de explosão a vapor e como houve uma grande redução da fração hemicelulósica, a percentagem de lignina total no material aumentou proporcionalmente de 21% do bagaço *in natura* para 33% em SE-7,5', porém, esse aumento não foi proporcional para SE-15', cujo o teor de lignina foi de 41,3%. Como esse dado sugere uma recuperação mássica de lignina de 110%, a severidade do processo deve ter causado a formação de huminas, que foram quantificadas juntamente com a lignina insolúvel em ácido. Tais materiais resultam de reações de condensação envolvendo compostos furânicos formados a partir da desidratação de carboidratos da fração hemicelulósica. Já as cinzas não sofreram alterações significativas e o leve aumento de ~1,5% observado se deve à redução de outros componentes do material.

Após a etapa de deslignificação por NaOH nos materiais recuperado pode-se observar o aumento do percentual de glucanas que está diretamente relacionado a diminuição do teor de lignina e da fração hemicelulósica. O percentual de lignina total foi reduzido de 33% para 8,2% em SE-7,5' e de 41,3% para 8,3% em SE-15'. Assim como observado durante o tratamento alcalino no grupo MRB-B, houve a presença de lignina solúvel no material recuperado de 0,5% para ambos os grupos, mesmo após lavagem exaustiva com água (100 L de água a cada 100 g de biomassa). Devido à baixa temperatura durante o tratamento alcalino (80 °C) em comparação com dados de literatura (~160 °C) (KAMALI; KHODAPARAST, 2015; THOMPSON; SWAIN; KAY; FORSTER, 2001), a xilana remanescente da fração hemicelulósica foi pouca afetada, com uma redução de apenas 1% durante esse procedimento para ambos os grupos. A fração de cinzas não foi afetada durante esse procedimento e seu aumento se deve à diminuição do percentual de lignina e xilanas.

Após o procedimento de deslignificação com NaOH, foi realizado o branqueamento utilizando NaOCl (TABELA 5) por 60 e 180 min. O rendimento mássico após essa etapa em ambos os tempos reduziu de ~57% para ~31,5%. Diferentemente no grupo MRB-B, os grupos

explodidos a vapor apresentaram boa eficiência no tempo de 60 min, devido provavelmente ao menor conteúdo hemicelulósico presente nos grupos explodidos, que são interferentes nessa reação. Tanto para 7,5 e 15 min de explosão, não foi mais possível detectar a presença de xilanas nas amostras. Em relação a lignina total, o grupo SE-7,5' apresentou 7,2% em comparação com 6,3% do grupo SE-15'. Para ambos os grupos, foi possível observar a presença de ~2% de lignina solúvel, mesmo após exaustiva lavagem com água potável (100 L de água para 100 g de biomassa) e 4,7% e 4,2% de lignina insolúvel para SE-7,5' e SE-15', respectivamente, demonstrando um conteúdo de lignina muito semelhante para ambos os grupos. Em 180 min foi também observado um percentual de lignina total semelhante de aproximadamente 5%, sendo ~2% de lignina solúvel e ~3% de lignina insolúvel.

#### 4.2 Caracterizações da biomassa após processamento por homogeneizador de alta pressão

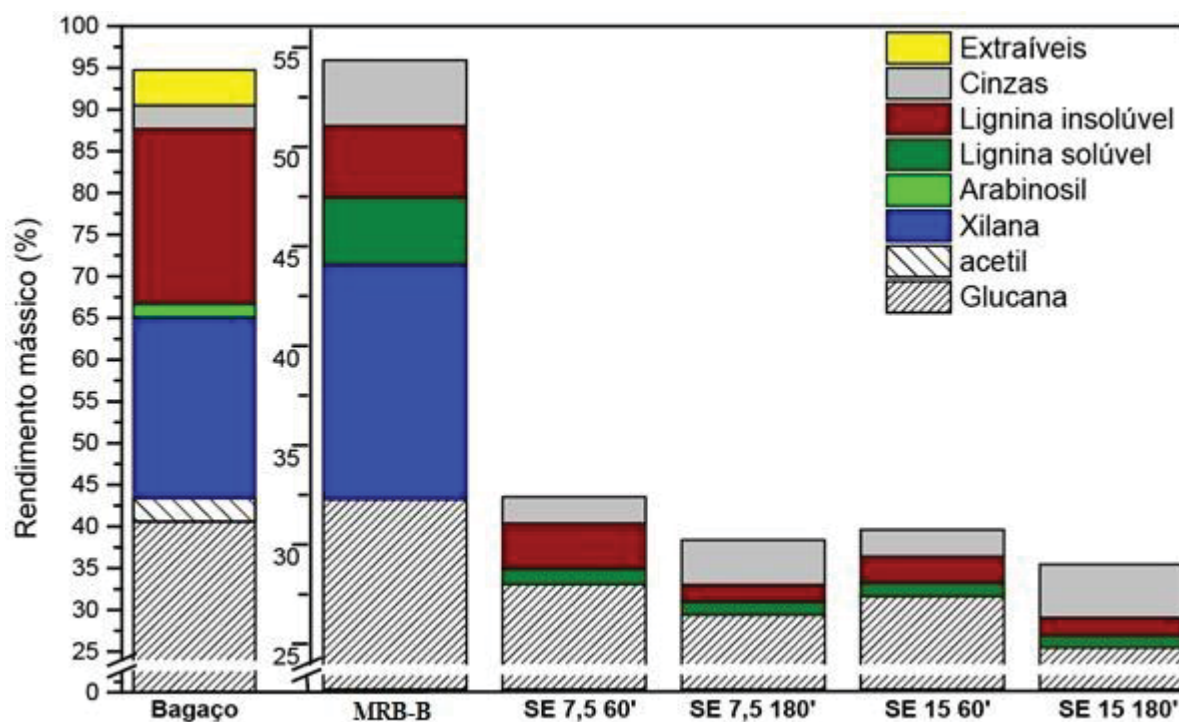
Após o branqueamento por 60 e 180 min com NaOCl e lavagem exaustiva, todos os grupos (MRB-B e explodidos a vapor) foram submetidos às mesmas condições de hidrólise enzimática utilizando endoglucanases. Esse procedimento foi utilizado devido à economia de energia que gera em processos mecânicos de desfibrilação, visando a produção de fibras com o menor diâmetro possível (KARGARZADEH *et al.*, 2017; XIE *et al.*, 2018). Além da vantagem de diminuir a drasticidade necessária para o tratamento mecânico, esse procedimento de hidrólise enzimática não resulta em perda significativa de massa do material, pois o tempo de reação é curto (3 h) e endoglucanases têm sua ação restrita a regiões amorfas da celulose. Logo, a composição química do material também não foi afetada em grande extensão. Após o tratamento enzimático seguido de lavagem aquosa, as suspensões foram submetidas à homogeneização por alta pressão nas mesmas condições experimentais. Foram obtidas suspensões com aparência de gel (sem a presença de agregados macroscópicos), propriedade característica do aumento da área superficial das fibras e indicativo de presença de nanofibras (FIGURA 21). Vale ressaltar que, após o procedimento mecânico, não houve alteração significativa na composição química das amostras (FIGURA 22), como indica a comparação dos dados das TABELAS 4 e 5.

FIGURA 21 — FOTOGRAFIAS DAS SUSPENSÕES DE CNF E CNC NA CONCENTRAÇÃO DE 1% EM MASSA COM 48 HORAS DE TEMPO DE ESPERA



FONTE: O Autor (2019)

FIGURA 22 — RESUMO DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇUCAR *IN NATURA* EM COMPARAÇÃO COM OS GRUPOS APÓS DESFIBRILAÇÃO MECÂNICA



LEGENDA: Para melhor visualização foi criado duas escalas de ordenada. A escala da ordenada do lado esquerdo é referente a apenas o grupo do bagaço, já a ordenada do lado direito é referente aos grupos restantes.

A determinação da demanda catiônica das fibras (TABELA 6) foi realizada mediante a quantidade de polímero catiônico que pode ser adsorvido nas fibras, o que está indiretamente relacionado à área superficial de materiais com composição química semelhante (DELGADO-AGUILAR; GONZÁLEZ; TARRÉS; ALCALÀ *et al.*, 2015). O MRB-B apresentou maiores valores de demanda catiônica que os grupos SE. No entanto, nesse caso, a demanda catiônica não pode ser correlacionada adequadamente com a área de superfície. Os MRB-B possuem conteúdo remanescente de hemicelulose, por outro lado, nos grupos SE, o conteúdo de



hemicelulose é completamente removido. Assim, o caráter altamente ramificado e hidrofílico das hemiceluloses pode ser responsável pela adsorção de polímero catiônico observada no MRB-B. Além disso, o aumento do grau de deslignificação de materiais do grupo SE, obtido ao estender o tempo de branqueamento de 60' para 180', causou um aumento significativo de sua demanda catiônica. Este resultado era esperado porque a lignina possui caráter hidrofóbico e, portanto, baixa interação com polímeros catiônicos. Assim, uma vez que na SE 7.5 180' e na SE-15-180' há superfície celulósica mais acessível, a demanda catiônica correspondente foi aumentada.

TABELA 6 — DEMANDA CATIÔNICA DE AMOSTRAS HOMOGENEIZADAS EM ALTA PRESSÃO

AMOSTRA	DEMANDA CATIÔNICA ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
MRB-B	282,3
SE-7,5-60'	46,7
SE-7,5-180'	127,4
SE-15-60'	62,3
SE-15-180'	125,3

Mudanças no comportamento reológico de materiais lignocelulosicos são esperadas em função da redução do diâmetro das fibras de uma escala micrométrica para uma escala nanométrica. Sabe-se que a superfície das fibras se organiza com água em redes semi-permanentes, caracterizadas por assumir uma aparência de "gel" (SAMANIUK, WANG *et al.*, 2011), (NGUYEN, ANNE-ARCHARD *et al.*, 2015). À medida que os diâmetros das fibras diminuem, a área superficial das fibras e o seu contato com a água aumentam, promovendo a orientação dessas quando expostas a um fluxo laminar. Como consequência, a massa mínima necessária para exibir a aparência de gel (ponto de gel) é reduzida. O conhecimento do ponto de gel é muito útil para estimar as dimensões da relação de aspecto (comprimento/diâmetro) das fibras (DELGADO-AGUILAR; GONZÁLEZ; TARRÉS; ALCALÀ *et al.*, 2015; LIU; CHEN; YUE; CHEN *et al.*, 2011; VARANASI; HE; BATCHELOR, 2013).

A norma TAPPI WI 3021 estabelece valores mínimos de proporção que devem ser considerados para classificação dos diferentes tipos de nanocelulose (KUMAGAI; ENDO; ADACHI, 2019). Devido a efeitos de alta agregação durante a secagem, é muito difícil analisar as dimensões das fibras usando microscopia eletrônica. Em contrapartida, medidas reológicas e técnicas de sedimentação podem oferecer alternativas rápidas e robustas para acessar as propriedades de dispersões de CNC e CNF (DELGADO-AGUILAR; GONZÁLEZ; TARRÉS;

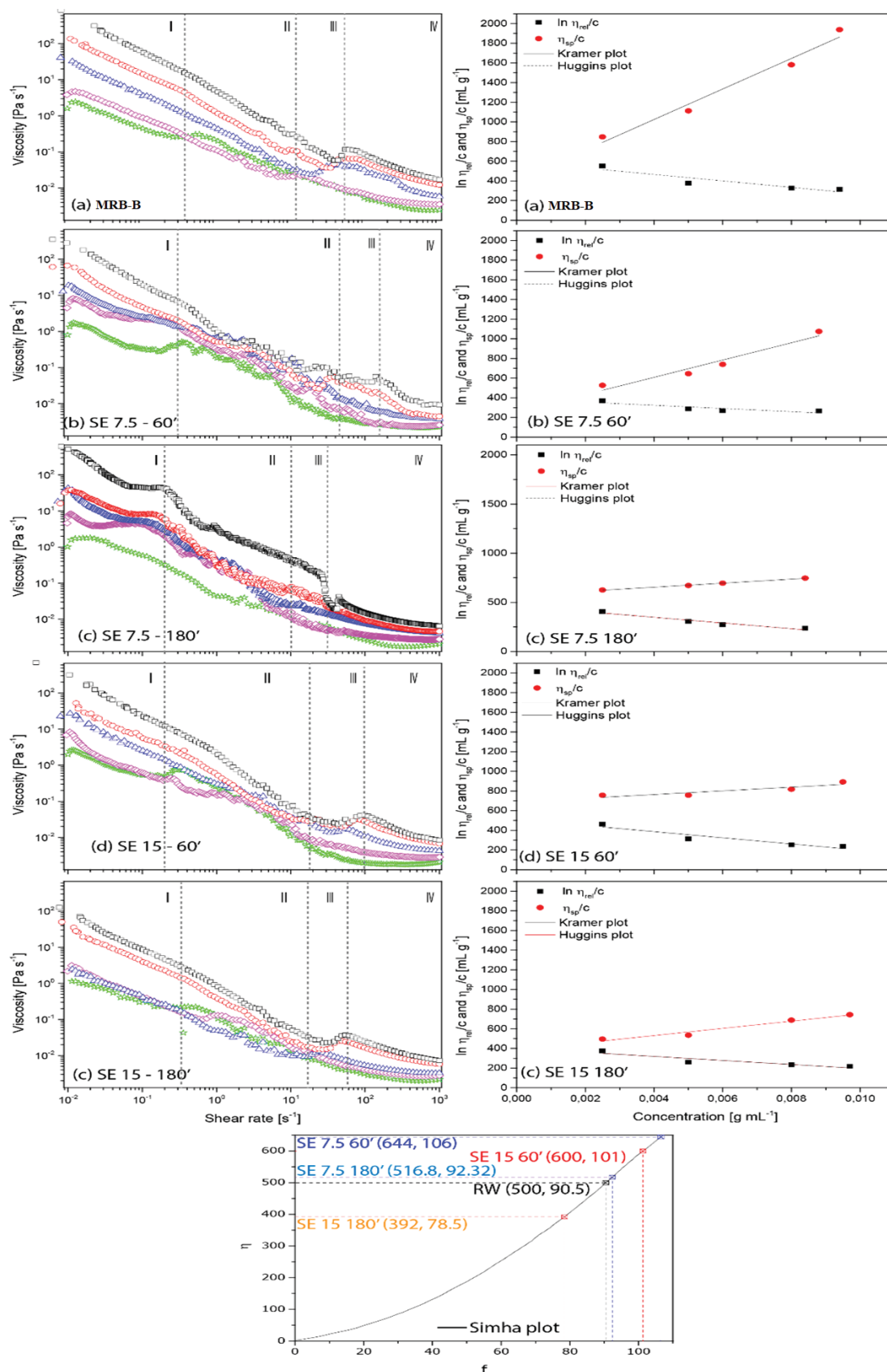
ALCALÀ *et al.*, 2015; LIU; CHEN; YUE; CHEN *et al.*, 2011; VARANASI; HE; BATCHELOR, 2013). Assim, a razão de aspecto das fibras produzidas nesse estudo foi primeiramente investigada por meio de medidas reológicas.

Mudanças de viscosidade no estado estacionário em função da taxa de cisalhamento são mostradas na FIGURA 23 (coluna esquerda) para suspensões de 10, 5, 2,5 e 1 mg mL<sup>-1</sup>. Observou-se que concentrações mais altas resultaram em aumento da viscosidade ao longo de todas as diluições da curva de cisalhamento, indicando que uma rede mais rígida foi criada com o aumento da concentração de fibras. Além disso, a viscosidade diminuiu à medida que a taxa de cisalhamento aumentou, exibindo um comportamento típico de afinamento por cisalhamento. Curiosamente, cada curva de afinamento por cisalhamento pode ser dividida em quatro regiões características. Na região I, as fibras se orientam lentamente ao longo da direção de cisalhamento sob baixa força de cisalhamento, causando uma diminuição gradual da viscosidade. Na região II, a viscosidade para de diminuir, evidenciando a formação de um platô. É possível que uma rede mais emaranhada tenha se formado nessa área, impedindo a redução contínua da viscosidade.

A interação das fibras com a superfície antiaderente da haste e das paredes do recipiente também podem gerar esse efeito, afetando a medida de maneira significativa. Tal efeito foi mais evidente para amostras de MRB-B (FIGURA 23-A), possivelmente pela presença de alto teor de hemiceluloses nesse material, o que favorece a ocorrência de interações fibra-fibra e fibra-recipientes. Na região III, na medida em que a taxa de cisalhamento aumenta continuamente, as forças de cisalhamento causam a quebra da rede emaranhada em nanofibras individuais, levando a uma queda acentuada na viscosidade. Na região IV, outro platô aparece porque a maior parte da rede emaranhada foi interrompida, com a formação de uma estrutura bem orientada. Os comportamentos descritos acima foram semelhantes aos resultados observados por Li *et al.* (2015) para nanopartículas de celulose.

O MRB-B (FIGURA 23-A) apresentou viscosidades mais altas do que amostras explodidas a vapor (FIGURA 23-B a E). Essa diferença na viscosidade pode ser atribuída não somente a diferenças de razão de aspecto das fibras (comprimento/diâmetro), mas também a diferenças em suas composições químicas. Como quantificado na anteriormente, o grupo MRB-B apresentou maior teor de hemiceluloses do que as amostras explodidas a vapor e a maior hidrofobicidade dessas pode ter exercido grande influência sobre as viscosidades observadas.

FIGURA 23 — PERFIL DE VISCOSIDADE VS TAXA DE CISALHAMENTO, PLOTS DE HUGGINS E KRAEMER E DE SIMHA DAS AMOSTRAS HOMOGENEIZADAS POR ALTA PRESSÃO



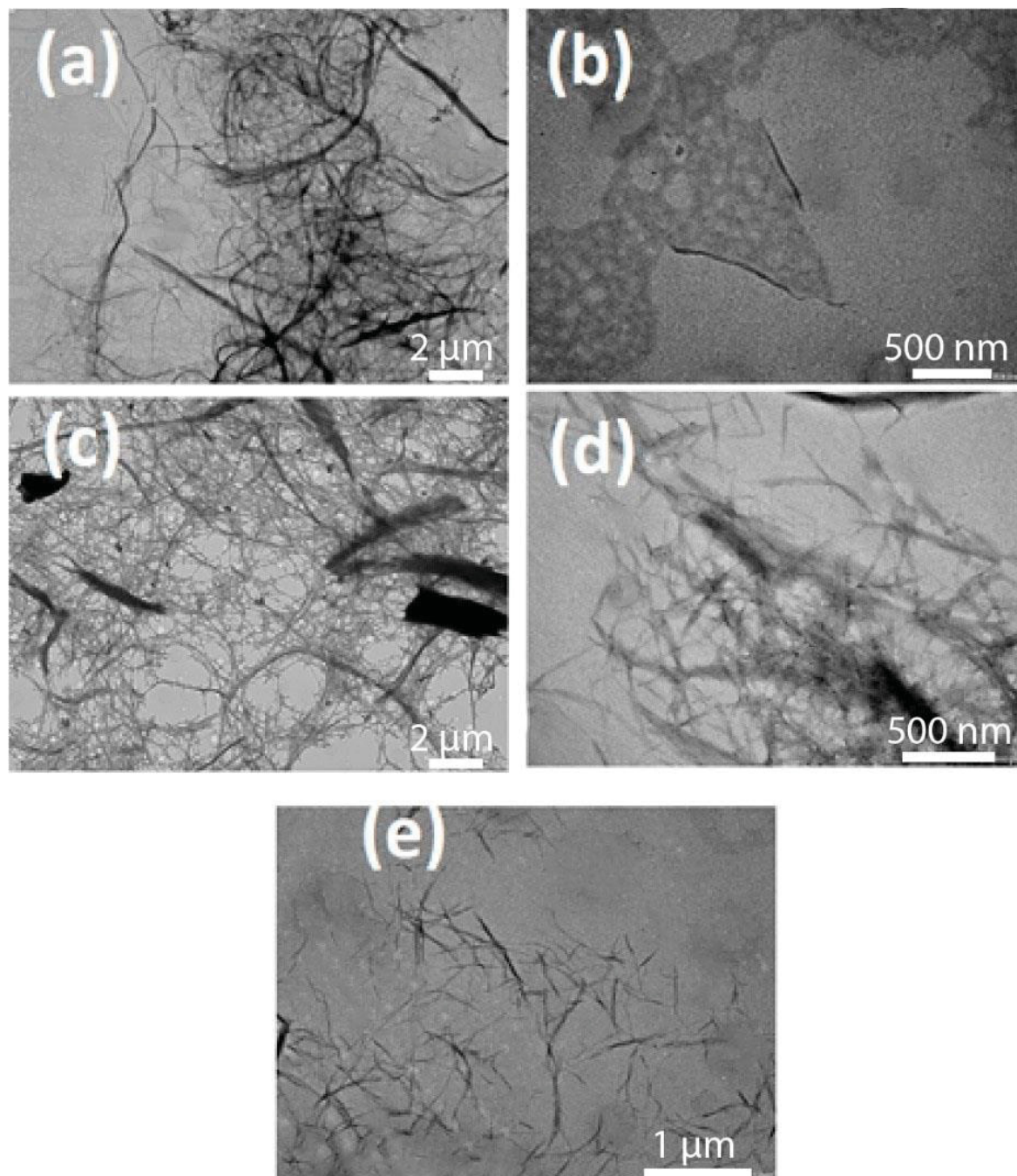
Para acessar os valores de razão de aspecto, primeiramente os valores de  $\ln \eta_{rel}/c$  e  $\ln \eta_{sp}/c$  (Equações 5 e 6) de suspensões homogeneizadas por alta pressão foram plotados em função da concentração a uma taxa de cisalhamento de  $1000 \text{ s}^{-1}$ , como apresentado na FIGURA 23-A a 15-E (coluna da direita). A aplicação das equações de Huggins e Kraemer geraram intercepções que correspondem ao  $[\eta]$  derivado de cada equação e a média desses valores foi calculado como o verdadeiro valor de  $[\eta]$ . Tais valores foram de 500, 644, 516,8, 600 e 392 para MRB-B, SE-7,5-60', SE-7,5-180', SE-15-60' e SE-15-180', respectivamente.

Os valores plotados de  $[\eta]$  versus  $f$  usando a equação de Simha (vide Material e Métodos para maiores esclarecimentos) são mostrados na FIGURA 23-F. O gráfico de Simha apresentou-se em forma de parábola, na qual  $[\eta]$  aumentou gradualmente na medida em que houve um aumento nos valores de  $f$ . Por substituição dos valores de  $[\eta]$  no gráfico de Simha, os seguintes valores de  $f$  foram obtidos: 90,5 para MRB-B, 106 para SE-7,5-60', 92,32 para SE-7,5-180', 101 para SE-15-60' e 78,5 para SE-15-180'. De acordo com a norma TAPPI WI 3021, todas essas proporções podem ser enquadradas na categoria de nanofibrilas de celulose, com razão de aspecto (comprimento/diâmetro) superior a 50. Todos os grupos explodidos a vapor, com exceção do grupo SE-15-180', apresentaram razão de aspecto ligeiramente maiores que o grupo MRB-B, indicando fibras de maior comprimento e/ou menor diâmetro. O grupo SE-15-180' apresentou valores de razão de aspecto significativamente mais baixos do que todos os demais, sugerindo fibras de menor comprimento e/ou maior diâmetro.

A FIGURA 24 mostra a micrografia TEM de micro e nanofibrilas de lignocelulose. Como mostrado na FIGURA 24-a, as nanofibras apresentaram valores de largura de  $11,7 \pm 23,5 \text{ nm}$ ,  $160,0 \pm 80,2 \text{ nm}$ ,  $28,0 \pm 12,3 \text{ nm}$ ,  $16,3 \pm 4,4 \text{ nm}$  e  $16,2 \pm 7,3 \text{ nm}$  para MRB-B, SE-7,5-60', SE-7,5-180', SE-15-60' e SE-15-180', respectivamente. A maioria das nanofibras apareceu como feixes ou aglomerados com larguras de 10 a 40 nm, com exceção das amostras SE 7.5-60' e SE 7.5-180', que apresentaram alto teor de microfibras. A presença de microfibras nos dois grupos SE 7.5 foi corroborada com a razão de aspecto obtida por modelagem estatística usando a equação de Simha (FIGURA 23). A determinação precisa dos comprimentos das nanofibras foi difícil porque elas se apresentaram fortemente agregadas ou torcidas, mesmo após o processo de homogeneização. A obtenção de uma rede altamente emaranhada de micro e nanofibrilas teve uma influência significativa nas propriedades reológicas viscoelásticas das suspensões. Embora seja possível observar a presença de fibras com comprimento reduzido apenas nos grupos SE-15 (FIGURA 24-D e 23-E), na faixa de 100-400 nm, fibras com larguras

em torno de 16 nm puderam ser classificadas como CNC de acordo com a norma TAPPI WI 3021.

FIGURA 24 — MICROGRAFIAS DE MICROSCÓPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DAS AMOSTRAS HOMOGENIZADAS POR ALTA PRESSÃO



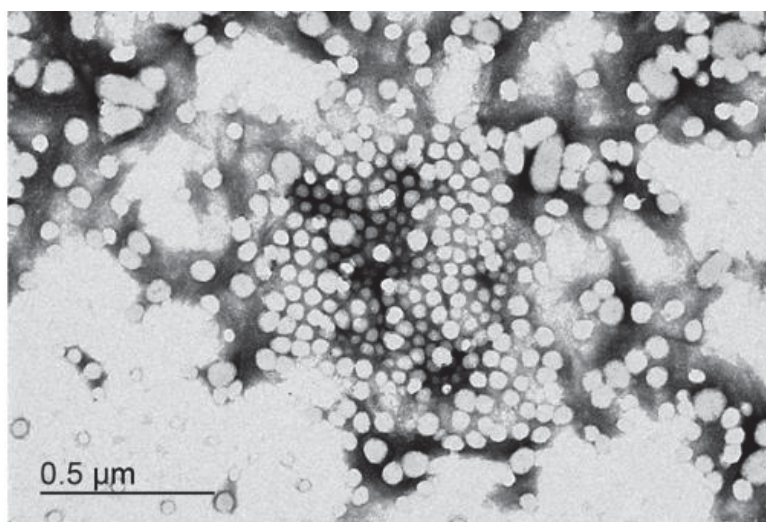
LEGENDA: MRB-B (A), SE 7.5-60' (B), SE 7.5-180' (C), SE-15-60' (D) e SE-15-180' (E)

A análise por TEM permitiu observar a presença de partículas inesperadas de morfologia esférica na suspensão de SE 7.5-60'. No entanto, devido ao baixo contraste, a



amostra foi contrastada com acetato de uranila para melhorar a sua visualização (FIGURA 25). O diâmetro médio das partículas esféricas foi de  $85 \pm 37$  nm. Essas nanopartículas pareciam possuir afinidade por adsorção às fibras, pois persistiam mesmo após lavagem exaustiva com água ultrapura. A hipótese é a de que essas nanopartículas correspondam a fragmentos de lignina precipitada que foram produzidas no pré-tratamento. De fato, JIANG (2018) verificaram que a presença de lignina na biomassa em maiores percentuais, após um tratamento de desfibrilação mecânica intenso para redução dos diâmetros à escala nanométrica, é capaz de coproduzir nanopartículas esféricas de lignina durante o procedimento.

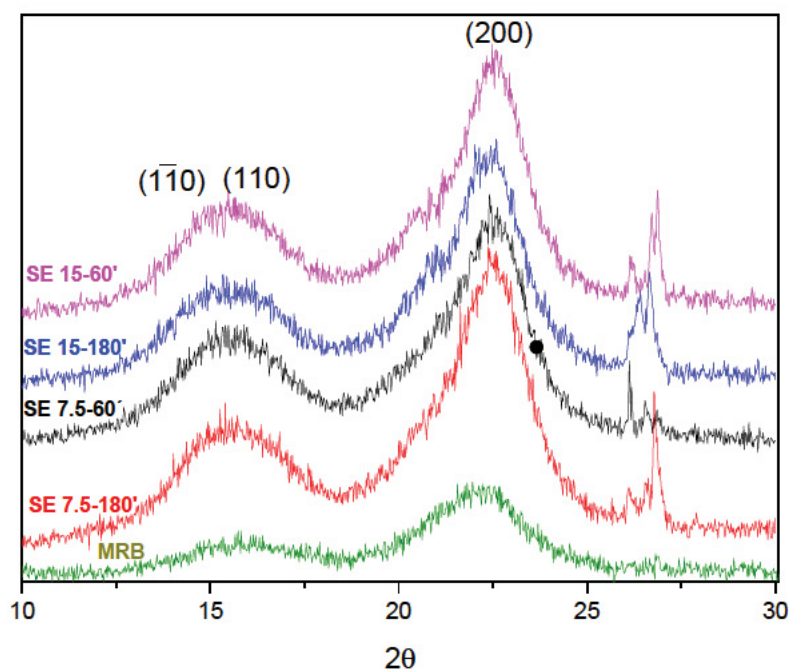
FIGURA 25 — MICROGRAFIAS DE MICROSCOPIO DE TRANSMISSÃO ELETRÔNICA DA AMOSTRA SE 7.5-60' EXIBINDO AS PARTÍCULAS ESFÉRICAS POR CONTRASTE URANÍLICO



Os difratogramas de raios-X das amostras liofilizadas depois de homogeneizadas por alta pressão estão mostrados na FIGURA 26. Todas as amostras exibiram quatro picos de difração principais em torno de  $15,2^\circ$ ,  $16,7^\circ$  e  $22,6^\circ$ , correspondendo aos planos cristalográficos  $1\bar{1}0$ ,  $1\ 1\ 0$  e  $2\ 0\ 0$  de celulose I, respectivamente. Explosão a vapor, refino mecânico e outras etapas de branqueamento não causaram nenhuma alteração na posição dos picos de difração, revelando que esses tratamentos não alteram a estrutura cristalina da celulose. No entanto, o índice de cristalinidade (CrI) foi ligeiramente alterado à medida que o tempo de explosão a vapor aumentou. Os valores de CrI calculados para MRB-B, SE 7.5-60', SE 7.5-180', SE-15-60' e SE-15-60', foram 68,5%, 72,7%, 76,2%, 75,8% e 77,0%, respectivamente. A variação entre os CrI de 68,5% para MRB-B e 75,0% para amostras pré-tratadas sugere que a explosão a vapor foi mais eficaz na redução de regiões amorfas, principalmente devido à remoção das hemiceluloses por hidrólise ácida parcial e ao aumento da área superficial das fibras para a ação

hidrolítica de endoglucanases. O maior valor de CrI para SE-15-180' corrobora com as imagens de TEM obtidas anteriormente, que exibiram partículas com razão de aspecto típicas de CNC.

FIGURA 26 — DIFRACTOGRAMAS DE RAIOS-X DAS AMOSTRAS HOMOGENEIZADAS POR ALTA PRESSÃO



As dimensões, razão de aspecto e índice de cristalinidade das lignonanoceluloses obtidas, em comparação com dados de literatura para nanoceluloses obtidas de bagaço de cana-de-açúcar explodido a vapor, estão sumarizados na TABELA 7. No entanto, embora esses trabalhos utilizem a mesma fonte de biomassa e condições semelhantes de explosão a vapor às utilizadas no presente trabalho, a metodologia de pós-tratamento para obtenção das nanoceluloses foi diferente, resultando em celulosos com baixo teor de lignina ( $< 1\%$ ) e/ou com derivatização de superfície (oxidação por TEMPO e esterificação com ácido sulfúrico). Não foram encontrados trabalhos baseados em metodologia de pós-tratamento semelhante ou que apresentassem nanoceluloses com diferentes teores de lignina utilizando a mesma fonte de biomassa.



TABELA 7 – COMPARAÇÃO DE NANOCELULOSES OBTIDAS NESSE TRABALHO COM ESTUDOS DE MESMA NATUREZA JÁ REALIZADOS COM BAGAÇO DE CANA DE AÇÚCAR PRÉ-TRATADOS POR EXPLOSÃO A VAPOR

Amostra	Método	Diâmetro (nm)	Comprimento (nm)	CrI (%)	$f$	Referência
SE-7,5'-60'	ME+DA+BH+HE+HPH	160,0 ± 80,2	400 a >1000	72,7	106	Esse trabalho
SE-7,5'-60' (esferas)	SE+DA+BH+HE+HPH	85 ± 37	--	--	--	
SE-7,5'-180'	SE+DA+BH+HE+HPH	28,0 ± 12,3	500 a >1000	76,2	92,32	
SE-15'-60'	SE+DA+BH+HE+HPH	16,3 ± 4,4	300 a >1000	75,8	101	
SE-15'-180'	SE+DA+BH+HE+HPH	16,2 ± 7,3	100-400	77,0	78,5	
CNF	ME+SE+B+ME	20-40	--	71,2	--	Feng; Cheng; Yang; Ma <i>et al.</i> (2018)
CNC	SE+B+HA	16 ± 4	201 ± 60	81,6	13*	Sukyai; Anongjanya; Bunyahwuthakul; Kongsin <i>et al.</i> (2018)
CNF	SE-HPH	5-10	--	68,1	--	Saelee; Yingkamaeng; Nimchua; Sukayi (2016)

LEGENDA: lignonocelulose fibrilada (LCNF), lignonocelulose microfibrilada (LCMF), lignonocelulose nanocristalina (LCNC), lignonocelulose nanoesférica (SLCN), celulose nanofibrilada (CNF), celulose nanocristalina (CNC). Razão de aspecto entre comprimento e largura ( $\beta$ ). Explosão a vapor (SE), tratamento mecânico (ME), tratamento enzimático (HE), tratamento por homogeneização a alta pressão (HPH), Deslignificação alcalina (DA), Branqueamento por hipoclorito (Bh), Hidrólise ácida (HA), Branqueamento (B); \* razão de aspecto calculada pelo autor baseando-se nos valores de comprimento e largura apresentado nos artigos.

Em relação ao diâmetro das fibras, com exceção do grupo SE-7,5-60', todas as amostras apresentaram tamanhos semelhantes (10-20 nm) em comparação com os dados reportados em literatura na TABELA 7, tanto para CNC quanto para CNF. Em específico para CNF, os trabalhos encontrados não reportaram o aferimento do comprimento, somente diâmetro e morfologia por microscopia eletrônicas, uma vez que o correto aferimento dessa dimensão é dificultado através de análises microscópicas, devido principalmente a processos de agregação e entrelaçamento das fibras (LI; WU; SONG; LEE *et al.*, 2015). No presente trabalho, esse problema foi resolvido realizando análises reológicas para a obtenção dos valores de razão de aspecto, que representa a razão entre as dimensões de comprimento e largura. Infelizmente, nenhum dos trabalhos comparados realizaram essa caracterização. Já em relação a estudos de CNC, foram observados valores de comprimento entre 200 a 250 nm. Embora esses trabalhos não tenham reportado razões de aspecto que tenham sido determinadas pelo uso de reologia ou de outra técnica analítica, tais valores foram calculados com base no diâmetro e no comprimento médio disponíveis para assim poder compará-los com os valores obtidos por reologia nesse trabalho. Os valores de razão de aspecto calculados (de 5 a 13) apresentaram-se menores do que aos da LCNC obtida no grupo SE-15-180' (de 78,5). No entanto, essa diferença pode ser explicada pela presença de LCNF na amostra, cuja maior razão de aspecto elevou o valor médio dessa análise. Em relação ao índice de cristalinidade, as amostras apresentaram valores (~72 a 77%) próximos aos reportados na literatura (68 a 79%), tanto na comparação de LCNF com CNF, quanto para LCNC e CNC.

Devido à carência de dados na literatura para materiais semelhantes, utilizando bagaço de cana-de-açúcar explodido a vapor para obtenção de lignonanocelulose, as propriedades das amostras foram comparadas com lignonanoceluloses obtidas a partir de bagaço de cana-de-açúcar e/ou outras fontes de biomassa utilizando outras formas de pré-tratamento (TABELA 8).

TABELA 8 – PROPRIEDADES DE LIGNONANOCELULOSES DERIVADAS DE DIFERENTES TIPOS DE MATERIAS-PRIMAS POR PROCESSOS QUE NÃO ENVOLVEM EXPLOÇÃO A VAPOR

Amostra	Biomassa	Método	Teor de lignina total (%)	Diâmetro (nm)	Comprimento (nm)	Ctl (%)	$f$	Ref.
LCNF	Palha de trigo	ME+HE+TEMPO	8,9-18,2	11,16-116	139-705	44-53	3,94-6,07*	Espinosa; Sánchez; Otero; Domingues-Robles <i>et al.</i> (2017)
LCNF	<i>Pinus</i> sp	ME	15, 20 e 25	~12	>1000	--	>83*	Diop; Tajvidi; Bilodeau; Bousfield <i>et al.</i> (2017)
LCNF	Palha	ME+HE+TEMPO	13,31	6,81-14,52	251-697	44,44	36-48*	Espinosa; Domingues-Robles; Sánchez; Tarrés <i>et al.</i> (2017)
LCNF	Serragem <i>Pinus</i> sp	ME+HE+TEMPO+HPH	2,47-6,47	~35	>1000	45	>26*	Delgado-Aguilar; González; Tarrés; Pélach <i>et al.</i> (2016)
LCNF+SLCNF	Polpa <i>kräft</i> branqueada de bagaço	HE+ME	0,1, 2,4 e 14,9	32, 27 e 9	--	--	--	Jiang; Liu; Yang; Song <i>et al.</i> (2018)
LCNF	Palha de trigo	ME+BH+HPH	4, 8 e 16	17, 14 e 13	>1000	--	~66*	Gu; Jiang; Song; Jin <i>et al.</i> (2019)
LCNF	<i>Eucalyptus</i> sp	ME+TEMPO+HPH		13	>1000	--	>76*	Herrera; Thitiwuthisakul; Yang; Rujitanaroj <i>et al.</i> (2018)

LEGENDA: lignonnanocelulose fibrilada (LCNF), lignonnanocelulose microfibrilada (LCMF), lignonnanocelulose nanocristalina (LCNC), lignonnanocelulose nanoesférica (SLCN), celulose nanofibrilada (CNF), celulose nanocristalina (CNC). Razão de aspecto entre comprimento e largura ( $\beta$ ). Explosão a vapor (SE), tratamento mecânico (ME), tratamento enzimático (HE), tratamento por homogeneização a alta pressão (HPH), Deslignificação alcalina (DA), Branqueamento por hipoclorito (BH)

\* razão de aspecto calculada pelo autor baseando-se nos valores de comprimento e largura apresentados nos artigos Mecânico (ME), enzimático (HE), oxidado por reagente TEMPO (2,2,6,6- tetrametilpiperidina-1-oxil), homogeneização por alta pressão (HPH).

Todos os trabalhos comparados, independentemente da fonte de biomassa escolhida, relatam dificuldades na desfibrilação das fibras da biomassa à escala nanométrica, sendo necessária a utilização de uma maior intensidade de tratamento mecânico (*e.g.*, maior número de passagens por moinho ou tempo de homogeneização a alta pressão) para obtenção de nanofibras. Além do mais, esses trabalhos também relatam índices de cristalinidade muito mais baixos (~45%) do que os obtidos no presente trabalho (>72%). Isso pode ser explicado devido à maior intensidade do tratamento mecânico, visto ser já relatado na literatura que o excesso de tratamento mecânico reduz drasticamente o índice de cristalinidade (POTULSKI; VIANA; DE MUNIZ; DE ANDRADE *et al.*, 2016; VIANA; MUÑIZ; MAGALHÃES; ANDRADE *et al.*, 2019). Nesse trabalho, as amostras previamente explodidas a vapor foram desfibriladas a diâmetro nanométricos empregando 9 passagens no moinho, que é a metade do reportado na literatura para a obtenção de lignonanoceluloses (GARCÍA; GANDINI; LABIDI; BELGACEM *et al.*, 2016; GHAEMI; ABDULLAH; ARIFFIN, 2019; HU; WANG; LIU; WU *et al.*, 2019; LEE; HAMID; ZAIN, 2014). Adicionalmente, além de se obter LCNF, foi também observada a presença de LCNC para amostras produzidas em tempos de explosão a vapor de 15 min. Nenhum outro trabalho que apresente a produção de LCNC nessas condições foi encontrado na literatura. Na amostra SE-7,5-60', como já descrito anteriormente, também foi observada a presença de nanopartículas esféricas de lignina. A formação dessas nanopartículas a partir da desfibrilação mecânica de biomassas lignificadas já foi descrito por Jiang *et al.* (2018), sob a hipótese de que ligninas pré-oxidadas durante processos controlados de branqueamento podem se reorganizar em nanopartículas durante o procedimento mecânico.

De forma sumarizada, foi demonstrado que a explosão a vapor do bagaço de cana-de-açúcar, seguido da remoção parcial de lignina, hidrólise enzimática e homogeneização por alta pressão, resultou no isolamento de micro e nanofibras de celulose contendo diferentes teores de lignina (SE-7,5-60', SE-7,5-180' e SE-15-60'), assim como nanocristais de lignocelulose (SE-15-180') e nanoesferas de lignina em pelo menos uma das condições (SE-7,5-60'). O maior índice de cristalinidade das amostras obtidas sugere maior potencial de aplicação como agentes de reforço mecânico de materiais, uma vez que essas propriedades estão relacionadas (PARK; BAKER; HIMMEL; PARILLA *et al.*, 2010). Foi verificado que o tempo de explosão a vapor tem influência sobre o comprimento final das fibras. Logo, existe a possibilidade de se otimizar a explosão a vapor para a produção de LCNF ou LCNC na presença ou não de nanopartículas esféricas de lignina, assim como para melhorar o rendimento mássico desses produtos.

As LCNF apresentam algumas vantagens em relação às nanoceluloses livres de lignina, como facilidade de secagem, redispersão e compatibilidade com matrizes mais hidrofóbicas. Além disso, estima-se que a sua produção também apresente vantagens econômicas significativas. Por exemplo, o custo de produção de LCNF a partir de polpas *kraft* utilizando hidrólise enzimática seguida de homogeneização a alta pressão foi estimado em 2000-5000 € ton<sup>-1</sup> (DELGADO-AGUILAR; GONZÁLEZ; TARRÉS; PÈLACH *et al.*, 2016), valor muito atrativo se comparado a alternativas já disponíveis em escala pré-industrial como a oxidação por TEMPO, cujo custo de produção foi recentemente estimado 206000 € ton<sup>-1</sup> (DELGADO-AGUILAR; TARRÉS; PÈLACH; MUTJÉ *et al.*, 2015). Além disso, o uso de resíduos agroindustriais para a produção de LCNF pode melhorar ainda mais a economia do processo. Por exemplo, o preço da explosão a vapor como técnica de pré-tratamento de materiais como o bagaço de cana é estimado em torno de 60 € ton<sup>-1</sup> e o custos de branqueamento estão abaixo de 100 € ton<sup>-1</sup> (COTANA; CAVALAGLIO; PETROZZI; COCCIA, 2015), valores bastante inferiores ao previsto para processos como a polpação *kraft*. Assim, espera-se que as LCNF de bagaço de cana produzidas nesse estudo apresentem-se bastante competitivas em relação aos produtos já eventualmente disponíveis no mercado.

Além dessas vantagens, devido a modificações na superfície das nanofibras, as lignonanoceluloses apresentam potencial para aplicação no reforço mecânico de materiais, assim como na melhoria na interação de diferentes materiais. Dentre esses figura a possibilidade de sua incorporação em fibras *kraft* para a confecção de papeis. Tal interesse pode ser justificado pela maior interação química dessas matrizes com biomassas lignocelulósicas, comparativamente às nanoceluloses sem lignina. Logo, a incorporação das lignonanoceluloses em papeis e seu efeito sobre as propriedades mecânicas foi avaliado, conforme descrito na segunda parte desse trabalho.

#### 4.3 INCORPORAÇÃO DE NANOFIBRAS EM FOLHAS DE PAPÉIS

As LNCFs obtidas das amostras de MRB-B, SE 7.5-60', SE 7.5-180', SE-15-60' e SE-15-180' foram incorporadas nas concentrações de 1,0, 3,0 e 5,0 % em fibras *kraft* para confecção de corpos de prova que, após confeccionados, foram analisados quanto aos seus índices de tração (FIGURA 27), rasgo (FIGURA 28) e estouro (FIGURA 29). A resistência do papel está diretamente relacionada ao tipo de fibras que foi utilizado para a sua confecção, como seu comprimento e espessura, flexibilidade, número de ligações inter e intra-cadeia e índice de

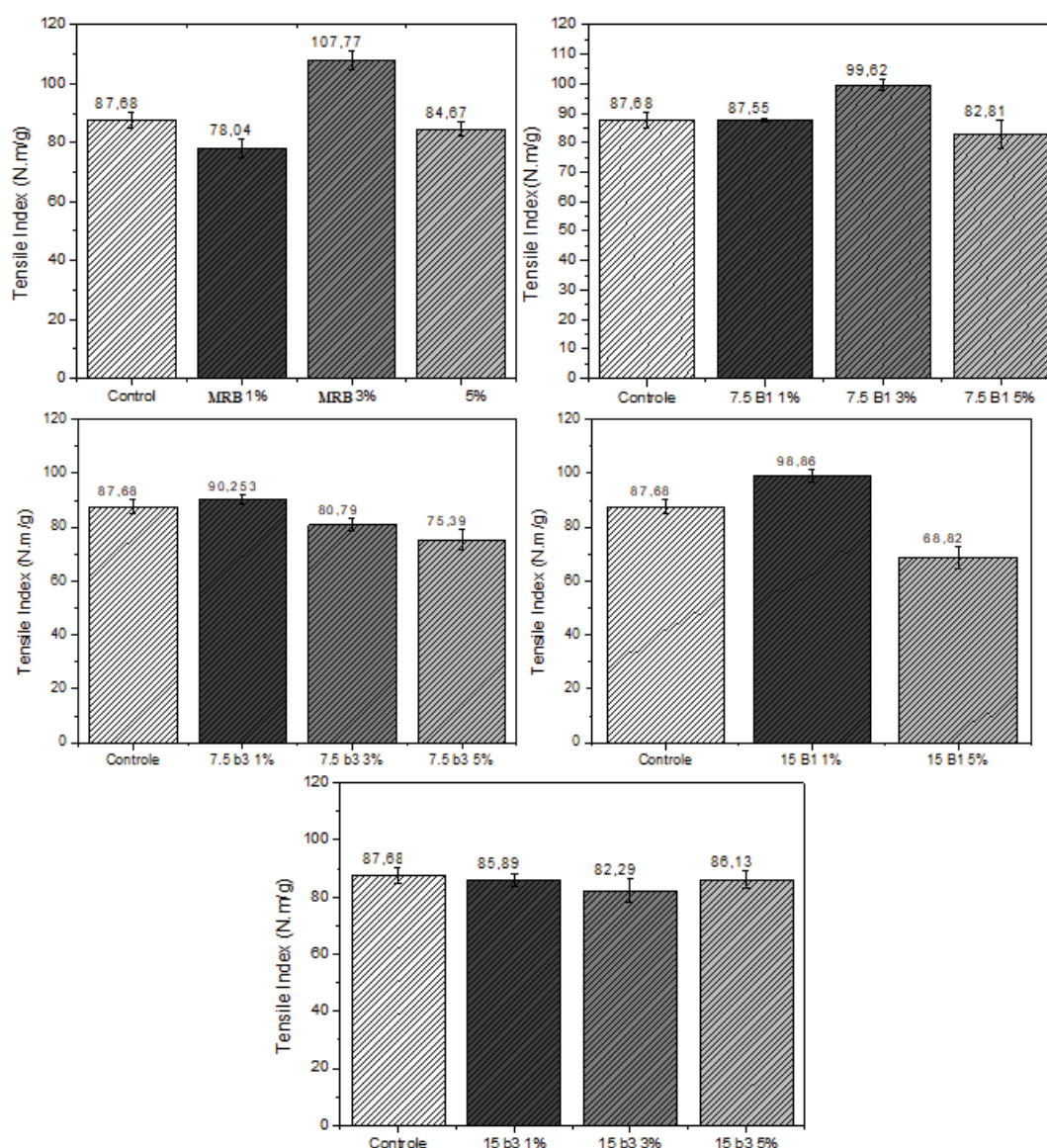
cristalinidade (BOUFI; GONZÁLEZ; DELGADO-AGUILAR; TARRÈS *et al.*, 2016). Com a adição das lignonanoceluloses, devido à alta compatibilidade química já conhecida entre essas matrizes (KARIMI; TAHERZADEH, 2016), é esperado que ocorra um aumento no número de ligações interfibrilares. Três propriedades mecânicas foram analisadas nos corpos de prova produzidos: a tração, que depende do emprego de uma força paralela ao plano do papel até que haja sua ruptura; o rasgo, que depende do emprego de uma força perpendicular ao plano do papel para realização de um corte; e o estouro, que depende do emprego de uma força perpendicular transversalmente ao plano do papel.

A FIGURA 27 apresenta os índices de tração calculados para as folhas de papel que foram fabricadas como corpos de prova. Comparativamente aos valores obtidos para o grupo que não recebeu a adição de nanofibras ( $87,68 \text{ N m g}^{-1}$ ), a incorporação de apenas 3% de MRB-B, 3% de SE-7,5-60' e 1% de SE-15-60' foi capaz de aumentar o índice de tração para  $107,77 \text{ N m g}^{-1}$ ,  $99,62 \text{ N m g}^{-1}$  e  $98,86 \text{ N m g}^{-1}$ , respectivamente, o que corresponde a aumento de 22,9%, 13,6% e 12,8% quando comparado com o grupo controle. No entanto, a melhora dessa propriedade foi observada apenas para esses três grupos e tais aumentos não foram proporcionais ao percentual de LNCF incorporado às folhas de papel. Provavelmente, o uso de maiores incorporações alterou a dinâmica de organização das fibras durante a confecção desses corpos de prova, com consequências diretas sobre as propriedades mecânicas assumidas após a sua preparação (FANGUEIRO; RANA, 2016; MITTAL; ANSARI; GOWDA; BROUZET *et al.*, 2018; PODSIADLO; KAUSHIK; ARRUDA; WAAS *et al.*, 2007). O grupo MRB-B pode ter apresentado maior índice de tração do que os grupos associados ao uso da explosão a vapor devido a diferenças na sua composição química. As LNCF de MRB-B apresentaram não somente a presença de celulose e lignina, mas também de hemiceluloses, diferentemente dos demais grupos, majoritariamente compostos por celulose e lignina. A presença dessa fração hemicelulósica possibilita a formação de um maior número de ligações interfibrilares que podem justificar o resultado obtido.

A FIGURA 28 mostra os resultados dos índices de rasgo calculados para os corpos de prova. Ao comparar com o grupo controle ( $10,20 \text{ kPa m}^2 \text{ g}^{-1}$ ), apenas os papeis incorporados com 3% de SE-15-180' resultaram em uma pequena melhoria nessa propriedade, que aumentou para  $13,62 \text{ kPa m}^2 \text{ g}^{-1}$ . O índice de rasgo é influenciado por fatores como o grau da interligação entre as fibras, mas principalmente pela sua resistência individual, que depende de seu comprimento e espessura da parede. Neste trabalho, a incorporação de nanofibras de celulose não mostrou diferença estatisticamente significativa em relação ao índice de rasgo.



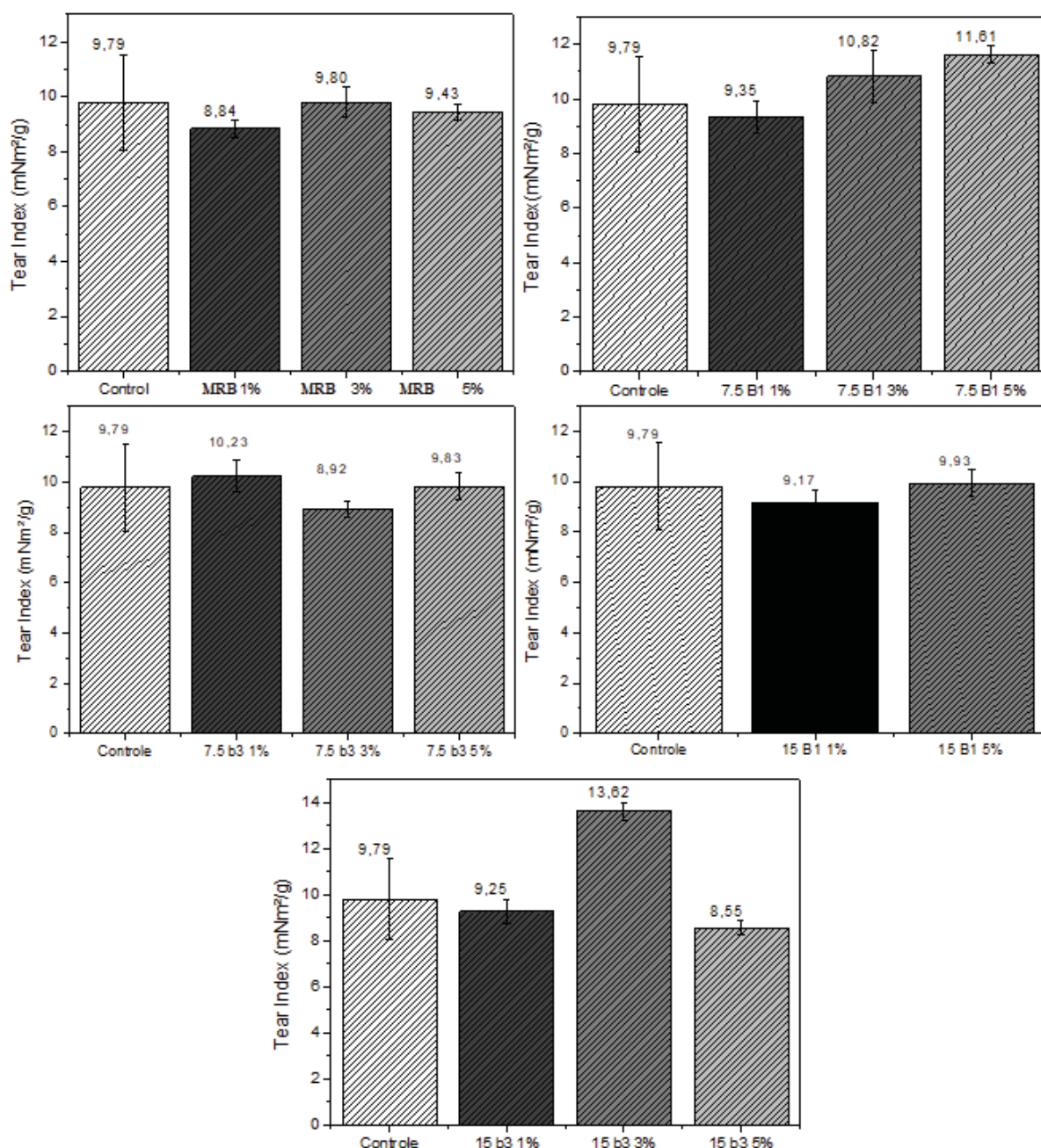
FIGURA 27 — ÍNDICE DE TRAÇÃO DE FOLHAS DE PAPEL DE FIBRAS *KRAFT* INCORPORADAS COM LIGNONANOCELULOSES



Para o índice de estouro (FIGURA 29), a incorporação das LNCF teve um efeito negativo, reduzindo a pressão máxima que o papel é capaz de suportar. As fibras produzidas a partir de explosão a vapor tem um efeito mais significativo, visto que a falta de fração hemicelulósica leva a um padrão de deposição das fibras em que a constituição física do papel seja mais vulnerável a uma aplicação de força perpendicular ao plano, diferentemente à força paralela aplicada na determinação do índice de tração.



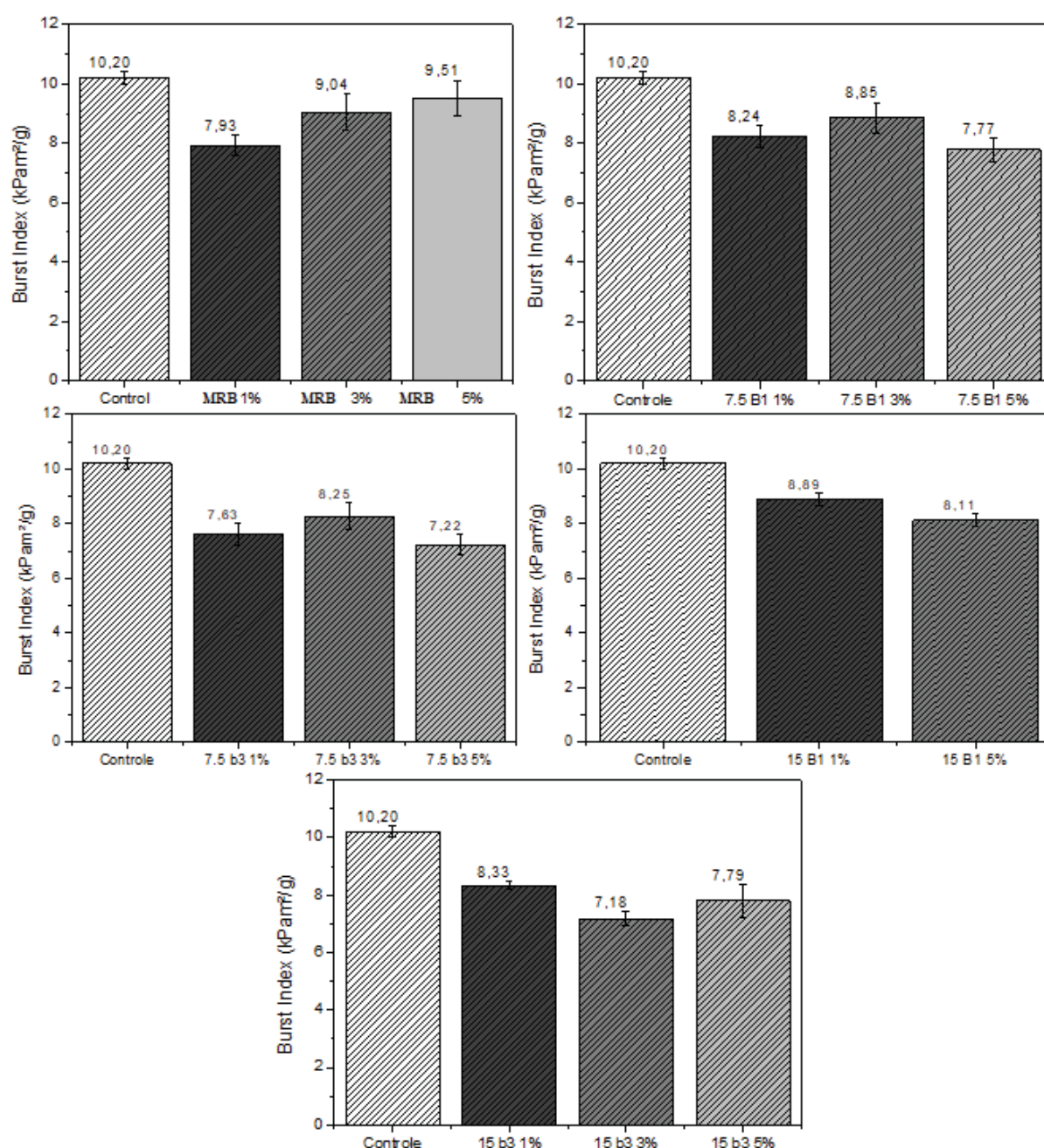
FIGURA 28 — ÍNDICE DE RASGO DE FOLHAS DE PAPEL DE FIBRAS *KRAFT* INCORPORADAS COM LIGNONANOCELULOSES.



O uso de nanoceluloses contendo lignina é uma área de pesquisa relativamente nova em relação à utilização de nanoceluloses branqueadas, mas essa vem crescendo significativamente na última década. Desde então, além da produção e otimização de diferentes métodos para produção de LNCFs de diferentes fontes, sua aplicação vem sendo testada em diferentes áreas, principalmente nas que a presença da lignina pode representar alguma vantagem quando comparada à nanoceluloses deslignificadas (*e.g.*, interação com materiais com caráter

hidrofóbico). Tais aplicações podem ser consultadas em grande detalhe na excelente revisão publicada recentemente por Solala; Iglesias; Peresin (2020).

FIGURA 29 — ÍNDICE DE ESTOURO DE FOLHAS DE PAPEL DE FIBRAS *KRAFT* INCORPORADAS COM LIGNONANOCELULOSES.



Em específico para aplicação de lignonanoceluloses na incorporação de fibras para confecção de papeis, foi encontrado somente um trabalho realizado por espinoza; Domínguez-Robles; Sánchez; Tarrés *et al.* (2017), utilizando LNCFs contendo 59,2% de  $\alpha$ -celulose, 13,3%

de lignina e 25,71% de hemiceluloses que foram extraídas de palha de trigo por três métodos distintos: (1) somente mecânico, (2) enzimático e mecânico e (3) oxidação por TEMPO e mecânico (TABELA 9). De acordo com a composição química dessas LNCF, amostra MRB-B, devido ao seu teor de hemiceluloses, foi a que apresentou maior semelhança, pois a explosão a vapor remove praticamente todo o teor hemicelulósico da matriz. Esse trabalho, no entanto, apresentou uma boa correlação entre o aumento da incorporação com o aumento dos índices de tração, rasgo e estouro para todos materiais investigados. No entanto, é importante ressaltar que esses autores não prepararam um grupo controle e utilizaram a adição de diferentes quantidades de LCNF nas folhas de papel, obtendo, no fim, papeis com massas diferentes entre si. Além disso, a massa final das folhas foi aumentada ainda mais pela a adição de amido catiônico como agente compatibilizante, cuja influência sobre os resultados de propriedade mecânica não foi avaliada. Hipoteticamente, somente a diferença de massa entre os corpos de prova, mesmo sem realizar a adição de LNCF ou de outros tipos de aditivos, já teria sido suficiente para causar uma melhora significativa em todas as propriedades mecânicas, mascarando assim o efeito da adição das nanofibras. No presente trabalho, todas as folhas apresentaram a mesma massa final, o que indica que os percentuais de LNCF adicionados estão contidos na massa total da folha. Além disso, foi observado que a água recuperada do processo de produção das folhas estava completamente translúcida e não apresentava fenômenos de difração com a incidência de um laser (efeito *Tyndall*), fenômeno característico de presença de nanofibras mesmo em baixas concentrações ( $\sim 1 \mu\text{g mL}^{-1}$  para nanoceluloses). Assim, a melhora nas propriedades mecânicas do presente trabalho está relacionada mais fielmente à presença de nanofibras. Devido a carência de comparação de trabalhos utilizando LCNFs como agentes de reforço, os resultados do presente trabalho foram comparados também com nanoceluloses sem lignina na incorporação de fibras para confecção de papeis, sendo listados na TABELA 9, alguns representativos.

TABELA 9 — COMPARAÇÃO DE INCORPORAÇÃO DE LIGNONANOCELULOSES E NANOCELULOSES EM FOLHAS DE PAPEL.

Amostra	Fonte	Método	Adição (%)	Melhora em:		Aditivo	Ref.
				Tração (%)	Rasgo (%)		
MRB-B SE-7,5'-60' SE-7,5'-180' SE-15'-60' SE-15'-180'	Bagaço	ME+DA+BH+HE+HPH	1 <sup>a</sup> , 3 <sup>b</sup> e 5 <sup>c</sup>	22,95 <sup>b</sup>	negativo	Nenhum	Esse trabalho
		SE+DA+BH+HE+HPH		16,60 <sup>b</sup>	negativo		
		SE+DA+BH+HE+HPH		negativo	negativo		
		SE+DA+BH+HE+HPH		12,78 <sup>a</sup>	negativo		
		SE+DA+BH+HE+HPH		negativo	13,62 <sup>c</sup>		
LCNF	Palha de trigo	ME	1 <sup>a</sup> , 2 <sup>b</sup> , 3 <sup>c</sup> , 4 <sup>d</sup> e 5 <sup>e</sup>	14 <sup>a</sup> , 19 <sup>b</sup> , 47 <sup>c</sup> , 61 <sup>d</sup> , 76 <sup>e</sup>	7 <sup>a</sup> , 0 <sup>b</sup> , 14 <sup>c</sup> , 23 <sup>d</sup> , 33 <sup>e</sup>	27 <sup>a</sup> , 41 <sup>b</sup> , 59 <sup>c</sup> , 59 <sup>d</sup> , 104 <sup>e</sup>	Espinosa; Domínguez- Robles; Sánchez; Tarrés <i>et al.</i> (2017)
		HE+ME		10 <sup>a</sup> , 30 <sup>b</sup> , 40 <sup>c</sup> , 40 <sup>d</sup> , 40 <sup>e</sup>	0	20 <sup>a</sup> , 50 <sup>b</sup> , 60 <sup>c</sup> , 60 <sup>d</sup> , 90 <sup>e</sup>	
		TEMPO+ME		10 <sup>a</sup> , 50 <sup>b</sup> , 80 <sup>c</sup> , 80 <sup>d</sup> , 80 <sup>e</sup>	10 <sup>a</sup> , 20 <sup>b</sup> , 40 <sup>c</sup> , 40 <sup>d</sup> , 40 <sup>e</sup>	30 <sup>a</sup> , 50 <sup>b</sup> , 140 <sup>c</sup> , 100 <sup>d</sup> , 90 <sup>e</sup>	
CNF	Polpa <i>kraft</i>	ME	4	21		Nenhum	Eriksen; Syverud; Gregersen (2008)
	bétula totalmente branqueada	ME+HE	5	35	--	Amido catiónico	Hellstrom; Heijnesson- Hultén; Paulsson; Kakansson <i>et al.</i> (2014)
	Polpa branqueada de eucalipto	TEMPO+ME	12,5	59	--	nanoargila	Guimond; Chabt; Law; Daneault (2010)
	Polpa branqueada de eucalipto	TEMPO+ME	9	99		Amido catiónico	González; Boufi; Pèlach; Alcalá <i>et al.</i> (2012)
	Polpa sulfito de coníferas	ME+HE+HPH	10	141	--	Xiloglucana	Schaqui; Berglund; Zhou (2013)

LEGENDA: lignonanolulose fibrilada (LCNF), lignonanolulose microfibrilada (LCMF), lignonanolulose esférica (SLCNF). Tratamento mecânico (ME), tratamento enzimático (HE), tratamento por oxidação usando reagente TEMPO (TEMPO), homogeneização por alta pressão (HPH), designificação alcalina (DA), branqueamento por hipoclorito (BH)

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho foi possível isolar nanomateriais com diferentes teores de lignina a partir de bagaço de cana explodido a vapor, seguido de deslignificação parcial e homogeneização sob alta pressão. De acordo com o tempo de reação, foi possível obter nanofibras com razão de aspecto na categoria de microfibras (CMF) e ou nanofibras (CNF), cujos teores de lignina puderam ser controlados de acordo com o tempo empregado na etapa de branqueamento. O tratamento com hipoclorito de sódio provocou a oxidação da lignina presente na superfície da biomassa, mas não contribuiu muito para a sua remoção. Assim, foi demonstrado que o uso de um pré-tratamento ácido como a explosão de vapor pode ser usado para obter nanomateriais lignocelulósicos de diferentes composições e razão de aspecto, sendo que ajustes na severidade do processo levariam à obtenção mais seletiva de materiais com características diferentes (MFC, CNF ou CNC). A explosão do vapor também afetou a macroestrutura da lignina, criando a possibilidade de se obter nanomateriais híbridos contendo nanocelulose e nanolignina e favorecendo assim a sua compatibilidade com compósitos de natureza hidrofóbica. Foi ainda possível observar uma melhora nas propriedades mecânicas dos papéis produzidos com a adição de LCNF. No entanto, essas melhoras não seguiram uma tendência linear em função da quantidade de LCNF efetivamente incorporadas, havendo assim a necessidade de ainda se estudar como as LCNF se organizam durante a formação das folhas de papel.

Como recomendações para trabalhos futuros, ficam registradas os seguintes procedimentos: (a) otimizar etapas de reações, como a explosão a vapor e hidrólise enzimática, a fim de obter LCNFs com menor variação nas dimensões e reduzir necessidades energéticas na homogeneização a alta pressão; (b) testar novas metodologias para confecção de papel com o uso de compatibilizantes para verificar como as propriedades mecânicas seriam afetadas; (c) testar a incorporação das LCNF em matrizes hidrofóbicas, como bioplásticos; e (d) realizar análises de microscopia nos materiais produzidos, a fim de se investigar como as fibras se organizam em cada tipo de matriz.



## REFERÊNCIAS

ABAD-FERNÁNDEZ, N.; PÉREZ, E.; COCERO, M. J. Aromatics from lignin through ultrafast reactions in water. **Green Chemistry**, 21, n. 6, p. 1351-1360, 2019.

ABE, K.; YANO, H. Comparison of the characteristics of cellulose microfibril aggregates of wood, rice straw and potato tuber. **Cellulose**, 16, n. 6, p. 1017-1023, 2009.

ALVES, A.; SCHWANNINGER, M.; PEREIRA, H.; RODRIGUES, J. Calibration of NIR to assess lignin composition (H/G ratio) in maritime pine wood using analytical pyrolysis as the reference method. **Holzforschung**, 60, n. 1, p. 29-31, 2006.

AUSTIN, A. T.; BALLARÉ, C. L. Dual role of lignin in plant litter decomposition in terrestrial ecosystems. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 107, n. 10, p. 4618-4622, 2010.

BANSAL, M.; CHAUHAN, G. S.; KAUSHIK, A.; SHARMA, A. Extraction and functionalization of bagasse cellulose nanofibres to Schiff-base based antimicrobial membranes. **International Journal of Biological Macromolecules**, 91, p. 887-894, 2016.

BELTRAMINO, F.; RONCERO, M. B.; VIDAL, T.; VALLS, C. A novel enzymatic approach to nanocrystalline cellulose preparation. **Carbohydrate Polymers**, 189, p. 39-47, 2018.

BHATIA, L.; GARLAPATI, V. K.; CHANDEL, A. K. Scalable Technologies for Lignocellulosic Biomass Processing into Cellulosic Ethanol. *In: Horizons in Bioprocess Engineering*: Springer, p. 73-90, 2019.

BHATTACHARYA, D.; GERMINARIO, L. T.; WINTER, W. T. Isolation, preparation and characterization of cellulose microfibrils obtained from bagasse. **Carbohydrate Polymers**, 73, n. 3, p. 371-377, 2008.

BOE, A.; LEE, D. Genetic variation for biomass production in prairie cordgrass and switchgrass. **Crop Science**, 47, n. 3, p. 929-934, 2007.

BOERJAN, W.; RALPH, J.; BAUCHER, M. Lignin biosynthesis. **Annual Review Of Plant Biology**, 54, n. 1, p. 519-546, 2003.

BOUFI, S.; GONZÁLEZ, I.; DELGADO-AGUILAR, M.; TARRÈS, Q. *et al.* Nanofibrillated cellulose as an additive in papermaking process: A review. **Carbohydrate Polymers**, 154, p. 151-166, 2016.

CAMARGO, L.; PEREIRA, S.; CORREA, A.; FARINAS, C. *et al.* Feasibility of manufacturing cellulose nanocrystals from the solid residues of second-generation ethanol production from sugarcane bagasse. **BioEnergy Research**, 9, n. 3, p. 894-906, 2016.

CAMPOS, A.; CORREA, A. C.; CANNELLA, D.; DE M TEIXEIRA, E. *et al.* Obtaining nanofibers from curauá and sugarcane bagasse fibers using enzymatic hydrolysis followed by sonication. **Cellulose**, 20, n. 3, p. 1491-1500, 2013.

CARRASCO, C.; BAUDEL, H. M.; SENDELIUS, J.; MODIG, T. *et al.* SO<sub>2</sub>-catalyzed steam pretreatment and fermentation of enzymatically hydrolyzed sugarcane bagasse. **Enzyme and Microbial Technology**, 46, n. 2, p. 64-73, 2010.

COTANA, F.; CAVALAGLIO, G.; PETROZZI, A.; COCCIA, V. Lignocellulosic biomass feeding in biogas pathway: state of the art and plant layouts. **Energy Procedia**, 81, p. 1231-1237, 2015.

D'ALMEIDA, M. L. O. Composição química dos materiais lignocelulósicos. **Celulose e Papel**, 2, p. 45-106, 1988.

DE CAMPOS, A.; CORRÊA, A. C.; CLARO, P. I. C.; DE MORAIS TEIXEIRA, E. *et al.* Processing, Characterization and Application of Micro and Nanocellulose Based Environmentally Friendly Polymer Composites. *In: Sustainable Polymer Composites and Nanocomposites*: Springer, 2019. p. 1-35.

DELGADO-AGUILAR, M.; GONZÁLEZ, I.; TARRÉS, Q.; ALCALÀ, M. *et al.* Approaching a Low-Cost Production of Cellulose Nanofibers for Papermaking Applications. **Bioresources**, 10, p. 5345-5355, 07/15 2015.

DELGADO-AGUILAR, M.; GONZÁLEZ, I.; TARRÉS, Q.; PÈLACH, M. À. *et al.* The key role of lignin in the production of low-cost lignocellulosic nanofibres for papermaking applications. **Industrial Crops and Products**, 86, p. 295-300, 2016.

DELGADO-AGUILAR, M.; TARRÉS, Q.; PÈLACH, M. A. n.; MUTJÉ, P. *et al.* Are cellulose nanofibers a solution for a more circular economy of paper products?. **Environmental Science & Technology**, 49, n. 20, p. 12206-12213, 2015.

DING, S.-Y.; HIMMEL, M. E. The maize primary cell wall microfibril: a new model derived from direct visualization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54, n. 3, p. 597-606, 2006.

DIOP, C. I. K.; TAJVIDI, M.; BILODEAU, M. A.; BOUSFIELD, D. W. *et al.* Isolation of lignocellulose nanofibrils (LCNF) and application as adhesive replacement in wood composites: example of fiberboard. **Cellulose**, 24, n. 7, p. 3037-3050, 2017.

DONG, S.; BORTNER, M. J.; ROMAN, M. Analysis of the sulfuric acid hydrolysis of wood pulp for cellulose nanocrystal production: A central composite design study. **Industrial Crops and Products**, 93, p. 76-87, 2016.

DUFRESNE, A. Nanocellulose Processing Properties and Potential Applications. **Current Forestry Reports**, 5, n. 2, p. 76-89, 2019.

ERIKSEN, Ø.; SYVERUD, K.; GREGERSEN, Ø. The use of microfibrillated cellulose produced from kraft pulp as strength enhancer in TMP paper. **Nordic Pulp & Paper Research Journal**, 23, n. 3, p. 299-304, 2008.



- ESPINOSA, E.; DOMÍNGUEZ-ROBLES, J.; SÁNCHEZ, R.; TARRÉS, Q. *et al.* The effect of pre-treatment on the production of lignocellulosic nanofibers and their application as a reinforcing agent in paper. **Cellulose**, 24, n. 6, p. 2605-2618, 2017.
- ESPINOSA, E.; SÁNCHEZ, R.; OTERO, R.; DOMÍNGUEZ-ROBLES, J. *et al.* A comparative study of the suitability of different cereal straws for lignocellulose nanofibers isolation. **International Journal of Biological Macromolecules**, 103, p. 990-999, 2017.
- FANGUEIRO, R.; RANA, S. **Natural Fibres: Advances in Science and Technology Towards Industrial Applications**. Dordrecht: Springer, 2016.
- FENG, Y.-H.; CHENG, T.-Y.; YANG, W.-G.; MA, P.-T. *et al.* Characteristics and environmentally friendly extraction of cellulose nanofibrils from sugarcane bagasse. **Industrial Crops and Products**, 111, p. 285-291, 2018.
- FENGEL, D. W., G. **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions**. Berlin: Walter de Gruyter, 1989.
- GARCÍA, A.; GANDINI, A.; LABIDI, J.; BELGACEM, N. *et al.* Industrial and crop wastes: A new source for nanocellulose biorefinery. **Industrial Crops and Products**, 93, p. 26-38, 2016.
- GHAEMI, F.; ABDULLAH, L. C.; ARIFFIN, H. Lignocellulose Structure and the Effect on Nanocellulose Production. *In: Lignocellulose for Future Bioeconomy*: Elsevier, 2019. p. 17-30.
- GIRI, J.; ADHIKARI, R. A brief review on extraction of nanocellulose and its application. **Bibechana**, 9, p. 81-87, 2013.
- GÍRIO, F. M.; FONSECA, C.; CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L. C. *et al.* Hemicelluloses for fuel ethanol: a review. **Bioresource Technology**, 101, n. 13, p. 4775-4800, 2010.
- GONZÁLEZ, I.; BOUFI, S.; PÈLACH, M. A.; ALCALÀ, M. *et al.* Nanofibrillated cellulose as paper additive in eucalyptus pulps. **BioResources**, 7, n. 4, p. 5167-5180, 2012.
- GOURLAY, K.; VAN DER ZWAN, T.; SHOURAV, M.; SADDLER, J. The potential of endoglucanases to rapidly and specifically enhance the rheological properties of micro/nanofibrillated cellulose. **Cellulose**, 25, n. 2, p. 977-986, 2018.
- GU, L.; JIANG, B.; SONG, J.; JIN, Y. *et al.* Effect of lignin on performance of lignocellulose nanofibrils for durable superhydrophobic surface. **Cellulose**, 26, n. 2, p. 933-944, 2019.
- GUIMOND, R.; CHABOT, B.; LAW, K. N.; DANEAU, C. The use of cellulose nanofibres in papermaking. **Journal of Pulp and Paper Science**, 36, n. 1-2, p. 55-61, 2010.
- HATAKEYAMA, H.; HATAKEYAMA, T. Lignin structure, properties, and applications. *In: Biopolymers*: Springer, 2009. p. 1-63.

HELLSTRÖM, P.; HEIJNESSON-HULTÉN, A.; PAULSSON, M.; HÅKANSSON, H. *et al.* Fenton pre-treated microfibrillated cellulose evaluated as a strength enhancer in the middle ply of paperboard. **Nordic Pulp & Paper Research Journal**, 29, n. 4, p. 732-740, 2014.

HERMANS, J. J.; HERMANS, P. H.; VERMAAS, D.; WEIDINGER, A. Quantitative evaluation of orientation in cellulose fibres from the X-ray fibre diagram. **Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas**, 65, n. 6, p. 427-447, 1946.

HERRERA, M.; THITIWUTTHISAKUL, K.; YANG, X.; RUJITANAROJ, P.-o. *et al.* Preparation and evaluation of high-lignin content cellulose nanofibrils from eucalyptus pulp. **Cellulose**, 25, n. 5, p. 3121-3133, 2018.

HILOIDHARI, M.; BHUYAN, N.; GOGOI, N.; SETH, D. *et al.* Agroindustry wastes: biofuels and biomaterials feedstocks for sustainable rural development. In: **Refining Biomass Residues for Sustainable Energy and Bioproducts**: Elsevier, 2020. p. 357-388.

HOAREAU, W.; TRINDADE, W. G.; SIEGMUND, B.; CASTELLAN, A. *et al.* Sugar cane bagasse and curaua lignins oxidized by chlorine dioxide and reacted with furfuryl alcohol: characterization and stability. **Polymer Degradation and Stability**, 86, n. 3, p. 567-576, 2004.

HOFFER, A.; GELENCSE, A.; BLAZSÓ, M. *et al.* Diel and seasonal variations in the chemical composition of biomass burning aerosol. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 6, n. 11, p. 3505-3515, 2006.

HU, Y.; WANG, B.; LIU, W.; WU, R. *et al.* Effects of Mechanical Pretreatments on Enzymatic Hydrolysis of Mixed Lignocellulosic Substrates for Biorefineries. **BioResources**, 14, n. 2, p. 4639-4652, 2019.

HUANG, J.; DUFRESNE, A.; LIN, N. **Nanocellulose**: from Fundamentals to Advanced Materials. John Wiley, 2019.

HUANG, Y.; NAIR, S. S.; CHEN, H.; FEI, B. *et al.* Lignin-Rich Nanocellulose Fibrils Isolated from Parenchyma Cells and Fiber Cells of Western Red Cedar Bark. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, 7, n. 18, p. 15607-15616, 2019.

HUGGINS, M. L. The viscosity of dilute solutions of long-chain molecules. IV. Dependence on concentration. **Journal of the American Chemical Society**, 64, n. 11, p. 2716-2718, 1942.

ISLAM, S. S.; RAHMAN, M. A.; FARUQUE, M. R. I.; ISLAM, M. T. Design and analysis with different substrate materials of a new metamaterial for satellite applications. **Science and Engineering of Composite Materials**, 25, n. 1, p. 59-66, 2018.

JENKINS, B. M.; BAXTER, L. L.; KOPPEJAN, J. Biomass combustion. In: BROWN, R. C. (Ed.). **Thermochemical processing of biomass**: conversion into fuels, chemicals and power, Hoboken: John Wiley, 2019, p. 49-83.

JIANG, Y. Effects of residual lignin on mechanical defibrillation process of cellulosic fiber for producing lignocellulose nanofibrils. **Cellulose**, 25, p. 6479-6494, 2018.

JIANG, Y.; LIU, X.; YANG, Q.; SONG, X. *et al.* Effects of residual lignin on mechanical defibrillation process of cellulosic fiber for producing lignocellulose nanofibrils. **Cellulose**, 25, n. 11, p. 6479-6494, 2018.

JIANG, Y.; LIU, X.; YANG, Q.; SONG, X. *et al.* Effects of residual lignin on composition, structure and properties of mechanically defibrillated cellulose fibrils and films. **Cellulose**, 26, n. 3, p. 1577-1593, 2019.

KAMALI, M.; KHODAPARAST, Z. Review on recent developments on pulp and paper mill wastewater treatment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 114, p. 326-342, 2015.

KARGARZADEH, H.; AHMAD, I.; THOMAS, S.; DUFRESNE, A. **Handbook of nanocellulose and cellulose nanocomposites**. John Wiley and Sons, 2017.

KARGARZADEH, H.; HUANG, J.; LIN, N.; AHMAD, I. *et al.* Recent developments in nanocellulose-based biodegradable polymers, thermoplastic polymers, and porous nanocomposites. **Progress in Polymer Science**, 87, p. 197-227, 2018.

KARIMI, K.; TAHERZADEH, M. J. A critical review on analysis in pretreatment of lignocelluloses: Degree of polymerization, adsorption/desorption, and accessibility. **Bioresource Technology**, 203, p. 348-356, 2016.

KARP, S. G.; WOICIECHOWSKI, A. L.; SOCCOL, V. T.; SOCCOL, C. R. Pretreatment strategies for delignification of sugarcane bagasse: a review. **Brazilian Archives of Biology And Technology**, 56, n. 4, p. 679-689, 2013.

KHALIL, H. A.; DAVOUDPOUR, Y.; ISLAM, M. N.; MUSTAPHA, A. *et al.* Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: a review. **Carbohydrate Polymers**, 99, p. 649-665, 2014.

KLOCK, U.; MUÑIZ, G. D.; HERNANDEZ, J. A.; ANDRADE, A. D. **Química da madeira**. Curitiba: UFPR, 3, 2005.

KOYAMA, M.; HELBERT, W.; IMAI, T.; SUGIYAMA, J. *et al.* Parallel-up structure evidences the molecular directionality during biosynthesis of bacterial cellulose. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 94, n. 17, p. 9091-9095, 1997.

KRAEMER, E. O. Molecular weights of celluloses and cellulose derivates. **Industrial & Engineering Chemistry**, 30, n. 10, p. 1200-1203, 1938.

KRISHNA, S. H.; PRASANTHI, K.; CHOWDARY, G.; AYYANNA, C. Simultaneous saccharification and fermentation of pretreated sugar cane leaves to ethanol. **Process Biochemistry**, 33, n. 8, p. 825-830, 1998.

KUMAGAI, A.; ENDO, T.; ADACHI, M. Evaluation of Cellulose Nanofibers by Using Sedimentation Method. **Japan Tappi Journal**, 73, n. 5, p. 461-469, 2019.

KUMAR, A.; NEGI, Y. S.; CHOUDHARY, V.; BHARDWAJ, N. K. Characterization of cellulose nanocrystals produced by acid-hydrolysis from sugarcane bagasse as agro-waste. **Journal of Materials Physics and Chemistry**, 2, n. 1, p. 1-8, 2014.

LAURICHESSE, S.; AVÉROUS, L. Chemical modification of lignins: Towards biobased polymers. **Progress in Polymer Science**, 39, n. 7, p. 1266-1290, 2014.

LEE, H.; HAMID, S.; ZAIN, S. Conversion of lignocellulosic biomass to nanocellulose: structure and chemical process. **The Scientific World Journal**, Article ID 631013, 2014.

LEISTRITZ, F. L.; SENECHAL, D. M.; STOWERS, M. D.; MCDONALD, W. F. *et al.* **Preliminary feasibility analysis for an integrated biomaterials and ethanol biorefinery using wheat straw feedstock**. North Dakota State University, Department of Agribusiness and Applied Economics, Agribusiness & Applied Economics Report, 2006.

LI, J.; WEI, X.; WANG, Q.; CHEN, J. *et al.* Homogeneous isolation of nanocellulose from sugarcane bagasse by high pressure homogenization. **Carbohydrate Polymers**, 90, n. 4, p. 1609-1613, 2012.

LI, M.-C.; WU, Q.; SONG, K.; LEE, S. *et al.* Cellulose nanoparticles: structure–morphology–rheology relationships. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, 3, n. 5, p. 821-832, 2015.

LI, M.; PU, Y.; RAGAUSKAS, A. J. Current understanding of the correlation of lignin structure with biomass recalcitrance. **Frontiers In Chemistry**, 4, p. 45, 2016.

LI, X.; CONVERSE, A. O.; WYMAN, C. E. Characterization of molecular weight distribution of oligomers from autocatalyzed batch hydrolysis of xylan. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 107, n. 1, p. 515-522, 2003.

LIN, S.; LIN, I. **Lignin in Ullmanns Encyclopedia of Industrial Chemistry**, Vol. 15. VCH Weinheim, 1990.

LIU, D.; CHEN, X.; YUE, Y.; CHEN, M. *et al.* Structure and rheology of nanocrystalline cellulose. **Carbohydrate Polymers**, 84, n. 1, p. 316-322.

LYND, L. R.; WYMAN, C. E.; GERNGROSS, T. U. Biocommodity Engineering. **Biotechnol Prog**, 15, n. 5, p. 777-793, 1999.

MA, R.; XU, Y.; ZHANG, X. Catalytic Oxidation of Biorefinery Lignin to Value-added Chemicals to Support Sustainable Biofuel Production. **ChemSusChem**, 8, n. 1, p. 24-51, 2015.

MAEDA, R. N.; SERPA, V. I.; ROCHA, V. A. L.; MESQUITA, R. A. A. *et al.* Enzymatic hydrolysis of pretreated sugar cane bagasse using *Penicillium funiculosum* and *Trichoderma harzianum* cellulases. **Process Biochemistry**, 46, n. 5, p. 1196-1201, 2011.

MANDAL, A.; CHAKRABARTY, D. Isolation of nanocellulose from waste sugarcane bagasse (SCB) and its characterization. **Carbohydrate Polymers**, 86, n. 3, p. 1291-1299, 2011.

MATHEW, A. P.; DUFRESNE, A. Morphological Investigation of Nanocomposites from Sorbitol Plasticized Starch and Tunicin Whiskers. **Biomacromolecules**, 3, n. 3, p. 609-617, 2002/05/01 2002.

MATHUR, R.; SRIVASTAVA, V. Crop Residue Burning: Effects on Environment. *In: Greenhouse Gas Emissions*: Springer, 2019. p. 127-140.

MCCANN, M. C.; CARPITA, N. C. Biomass recalcitrance: a multi-scale, multi-factor, and conversion-specific property. **Journal of Experimental Botany**, 66, n. 14, p. 4109-4118, 2015.

METGEN. Disponível em: <https://www.metgen.com/>. Acesso em: 03 dez. 2019.

MIHIRETU, G. T.; CHIMPHANGO, A. F.; GÖRGENS, J. F. Steam explosion pre-treatment of alkali-impregnated lignocelluloses for hemicelluloses extraction and improved digestibility. **Bioresource Technology**, 294, p. 122121, 2019.

MITTAL, N.; ANSARI, F.; GOWDA, V. K.; BROUZET, C. *et al.* Multiscale control of nanocellulose assembly: transferring remarkable nanoscale fibril mechanics to macroscale fibers. **ACS Nano**, 12, n. 7, p. 6378-6388, 2018.

MONAVARI, S.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Influence of impregnation with lactic acid on sugar yields from steam pretreatment of sugarcane bagasse and spruce, for bioethanol production. **Biomass and Bioenergy**, 35, n. 7, p. 3115-3122, 2011.

MOOD, S. H.; GOLFESHAN, A. H.; TABATABAEI, M.; JOUZANI, G. S. *et al.* Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 27, p. 77-93, 2013.

MORAES ROCHA, G. J.; MARTIN, C.; SOARES, I. B.; MAIOR, A. M. S. *et al.* Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production. **Biomass and Bioenergy**, 35, n. 1, p. 663-670, 2011.

MOUSTAKAS, K.; LOIZIDOU, M.; REHAN, M.; NIZAMI, A. A Review of Recent Developments in Renewable and Sustainable Energy Systems: Key Challenges and Future Perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2019.

NAIR, S. S.; KUO, P.-Y.; CHEN, H.; YAN, N. Investigating the effect of lignin on the mechanical, thermal, and barrier properties of cellulose nanofibril reinforced epoxy composite. **Industrial Crops and Products**, 100, p. 208-217, 2017.

NAIR, S. S.; YAN, N. Effect of high residual lignin on the thermal stability of nanofibrils and its enhanced mechanical performance in aqueous environments. **Cellulose**, 22, n. 5, p. 3137-3150, 2015.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise Enzimática de Biomassa. **Química Nova**, 33, p. 1549-1558, 2010.

OLIVEIRA, F. B.; BRAS, J.; PIMENTA, M. T. B.; DA SILVA CURVELO, A. A. *et al.* Production of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse fibers and pith. **Industrial Crops and Products**, 93, p. 48-57, 2016.

PAAJANEN, A. Computational Studies on Cellulose: Pyrolysis, Nanostructure and Hydrodynamic Behaviour, 2020. 91f. Tese (Doutorado em Física), Faculty of Science, University of Helsinki, Helsinki, 2020. Disponível em:

<https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/308981/COMPUTAT.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 13 out. 2019.

PARK, S.; BAKER, J. O.; HIMMEL, M. E.; PARILLA, P. A. *et al.* Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. **Biotechnology for Biofuels**, 3, n. 1, p. 10, 2010.

PEREIRA, B.; ARANTES, V. Nanocelluloses From Sugarcane Biomass. *In: Advances in Sugarcane Biorefinery*: Elsevier, 2018. p. 179-196.

PITARELO, A. P.; FONSECA, C. S. d.; CHIARELLO, L. M.; GÍRIO, F. M. *et al.* Ethanol Production from Sugarcane Bagasse Using Phosphoric Acid-Catalyzed Steam Explosion. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 27, p. 1889-1898, 2016.

PODSIADLO, P.; KAUSHIK, A. K.; ARRUDA, E. M.; WAAS, A. M. *et al.* Ultrastrong and stiff layered polymer nanocomposites. **Science**, 318, n. 5847, p. 80-83, 2007.

POTULSKI, D. C.; VIANA, L. C.; DE MUNIZ, G.; DE ANDRADE, A. S. *et al.* Characterization of fibrillated cellulose nanofilms obtained at different consistencies. **Scientia Forestalis**, 44, n. 110, p. 361-372, 2016.

PRAJAPATI, A. S.; PANCHAL, K. J.; PAWAR, V. A.; NORONHA, M. J. *et al.* Review on Cellulase and Xylanase Engineering for Biofuel Production. **Industrial Biotechnology**, 14, n. 1, p. 38-44, 2018.

QIN, K.; THUNMAN, H. Diversity of chemical composition and combustion reactivity of various biomass fuels. **Fuel**, 147, p. 161-169, 2015.

RAMOS, L. P. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. **Química Nova**, 26, n. 6, p. 863-871, 2003.

RENCORET, J.; GUTIÉRREZ, A.; NIETO, L.; JIMÉNEZ-BARBERO, J. *et al.* Lignin composition and structure in young versus adult Eucalyptus globulus plants. **Plant Physiology**, 155, n. 2, p. 667-682, 2011.

ROCHA, G. J. M.; GONÇALVES, A. R.; OLIVEIRA, B. R.; OLIVARES, E. G. *et al.* Steam explosion pretreatment reproduction and alkaline delignification reactions performed on a pilot scale with sugarcane bagasse for bioethanol production. **Industrial Crops and Products**, 35, n. 1, p. 274-279, 2012/01/01/ 2012.

ROJO, E.; PERESIN, M. S.; SAMPSON, W. W.; HOEGER, I. C. *et al.* Comprehensive elucidation of the effect of residual lignin on the physical, barrier, mechanical and surface properties of nanocellulose films. **Green Chemistry**, 17, n. 3, p. 1853-1866, 2015.

SAAD, M.; OLIVEIRA, L.; CÂNDIDO, R.; QUINTANA, G. *et al.* Preliminary studies on fungal treatment of sugarcane straw for organosolv pulping. **Enzyme and Microbial Technology**, 43, n. 2, p. 220-225, 2008.

SAELEE, K.; YINGKAMHAENG, N.; NIMCHUA, T.; SUKYAI, P. An environmentally friendly xylanase-assisted pretreatment for cellulose nanofibrils isolation from sugarcane



bagasse by high-pressure homogenization. **Industrial Crops and Products**, 82, p. 149-160, 2016.

SANDHU, S. K.; MATHUR, A.; GUPTA, R.; PURI, S. K. *et al.* Cellulosic Biomass-Hydrolyzing Enzymes. *In: Waste to Wealth*: Springer, 2018. p. 441-456.

SANTOS, F. A.; QUEIRÓZ, J. D.; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A. *et al.* Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, 35, n. 5, p. 1004-1010, 2012.

SANTUCCI, B. S.; BRAS, J.; BELGACEM, M. N.; DA SILVA CURVELO, A. A. *et al.* Evaluation of the effects of chemical composition and refining treatments on the properties of nanofibrillated cellulose films from sugarcane bagasse. **Industrial Crops and Products**, 91, p. 238-248, 2016.

SEHAQUI, H.; BERGLUND, L. A.; ZHOU, Q. Biorefinery: Nanofibrillated cellulose for enhancement of strength in high-density paper structures. **Nordic Pulp & Paper Research Journal**, 28, n. 2, p. 182-189, 2013.

SEIDEL, C. Steam Explosion Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Advanced Biofuels, 2019. 209 f. Tese (Doutorado em Mechanical and Process Engineering) - Institute of Process Engineering, ETH Zurich, Zúrich, 2019. Disponível em: <https://www.research-collection.ethz.ch/handle/20.500.11850/353549>. Acesso em: 24 set. 2019.

SHINDE, S. D.; MENG, X.; KUMAR, R.; RAGAUSKAS, A. J. Recent advances in understanding the pseudo-lignin formation in a lignocellulosic biorefinery. **Green Chemistry**, 20, n. 10, p. 2192-2205, 2018.

SILVA, A. S. A.; INOUE, H.; ENDO, T.; YANO, S. *et al.* Milling Pretreatment of Sugarcane Bagasse and Straw for Enzymatic Hydrolysis and Ethanol Fermentation. **Bioresource Technology**, 101, n. 19, p. 7402-7409, 2010.

SILVEIRA, M. H. L.; MORAIS, A. R. C.; DA COSTA LOPES, A. M.; OLEKSZYSZEN, D. N. *et al.* Current pretreatment technologies for the development of cellulosic ethanol and biorefineries. **ChemSusChem**, 8, n. 20, p. 3366-3390, 2015.

SILVEIRA, M. H. L.; SIIKA-AHO, M.; KRUUS, K.; GARRIGA, L. M. *et al.* The essential role of plant cell wall degrading enzymes in the success of biorefineries: current status and future challenges. *In: Biofuels in Brazil*: Springer, 2014. p. 151-172.

SIMHA, R. The Influence of Brownian Movement on the Viscosity of Solutions. **The Journal of Physical Chemistry**, 44, n. 1, p. 25-34, 1940.

SJÖSTRÖM, E. **Wood chemistry: fundamentals and applications**. San Diego: Academic Press, 1993.

SLAVUTSKY, A. M.; BERTUZZI, M. A. Water barrier properties of starch films reinforced with cellulose nanocrystals obtained from sugarcane bagasse. **Carbohydrate Polymers**, 110, p. 53-61, 2014.



SOLALA, I.; IGLESIAS, M. C.; PERESIN, M. S. On the potential of lignin-containing cellulose nanofibrils (LCNFs): a review on properties and applications. **Cellulose**, 27, p. 1853–1877, 2020.

SOLOMONS, T. W. G. **Organic Chemistry**. New York: John Wiley, 1996.

SONG, Y.; LI, X.; HAN, G.; ZHANG, Y. *et al.* Comparison of Different Methods to Produce Pineapple Leaf Fibers with Steam Explosion. **Journal of Natural Fibers**, 2019. DOI: 10.1080/15440478.2019.1612301.

SUKYAI, P.; ANONGJANYA, P.; BUNYAHWUTHAKUL, N.; KONGSIN, K. *et al.* Effect of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse on whey protein isolate-based films. **Food Research International**, 107, p. 528-535, 2018.

SZCZERBOWSKI, D.; PITARELO, A. P.; ZANDONÁ FILHO, A.; RAMOS, L. P. Sugarcane biomass for biorefineries: Comparative composition of carbohydrate and non-carbohydrate components of bagasse and straw. **Carbohydrate Polymers**, 114, p. 95-101, 2014/12/19/ 2014.

TAPPI. **Proposed new TAPPI standard:** Standard terms and their definition for cellulose nanomaterial. 2010. Disponível em: <https://www.tappi.org/content/hide/draft3.pdf>. Acesso em 2020.

TARRÉS, Q.; SAGUER, E.; PÈLACH, M. A.; ALCALÀ, M. *et al.* The feasibility of incorporating cellulose micro/nanofibers in papermaking processes: the relevance of enzymatic hydrolysis. **Cellulose**, 23, n. 2, p. 1433-1445, 2016.

TEIXEIRA, E.; BONDANCIA, T. J.; TEODORO, K. B. R.; CORRÊA, A. C. *et al.* Sugarcane bagasse whiskers: extraction and characterizations. **Industrial Crops and Products**, 33, n. 1, p. 63-66, 2011.

TEIXEIRA, R. S. S.; DA SILVA, A. S. A.; JANG, J.-H.; KIM, H.-W. *et al.* Combining biomass wet disk milling and endoglucanase/ $\beta$ -glucosidase hydrolysis for the production of cellulose nanocrystals. **Carbohydrate Polymers**, 128, p. 75-81, 2015.

THOMPSON, G.; SWAIN, J.; KAY, M.; FORSTER, C. The treatment of pulp and paper mill effluent: a review. **Bioresource Technology**, 77, n. 3, p. 275-286, 2001.

VANHOLME, R.; DEMEDTS, B.; MORREEL, K.; RALPH, J. *et al.* Lignin Biosynthesis and Structure. **Plant Physiology**, 153, n. 3, p. 895, 2010.

VARANASI, S.; HE, R.; BATCHELOR, W. Estimation of cellulose nanofibre aspect ratio from measurements of fibre suspension gel point. **Cellulose**, 20, n. 4, p. 1885-1896, 2013/08/01 2013.

VASSILEV, S. V.; BAXTER, D.; ANDERSEN, L. K.; VASSILEVA, C. G. An overview of the chemical composition of biomass. **Fuel**, 89, n. 5, p. 913-933, 2010.

VELMURUGAN, R.; MUTHUKUMAR, K. Sono-assisted enzymatic saccharification of sugarcane bagasse for bioethanol production. **Biochemical Engineering Journal**, 63, p. 1-9, 2012.

VIANA, L. C.; MUÑIZ, G. I. B. D.; MAGALHÃES, W. L. E.; ANDRADE, A. S. D. *et al.* Filmes Nanoestruturados Produzidos a partir de Polpa Kraft Branqueada de Pinus sp. **Floresta e Ambiente**, 26, n. 4, Artigo e20150191, 2019.

WILLIAMS, A.; JONES, J.; MA, L.; POURKASHANIAN, M. Pollutants from the combustion of solid biomass fuels. **Progress in Energy and Combustion Science**, 38, n. 2, p. 113-137, 2012.

WYMAN, C. E.; DECKER, S. R.; HIMMEL, M. E.; BRADY, J. W. *et al.* **Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility**. Dekker: New York: 2005.

XIAO, Z.; ZHANG, X.; GREGG, D. J.; SADDLER, J. N. Effects of sugar inhibition on cellulases and  $\beta$ -glucosidase during enzymatic hydrolysis of softwood substrates. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 113-116, p. 1115-1126, 2004.

XIE, H.; DU, H.; YANG, X.; SI, C. Recent strategies in preparation of cellulose nanocrystals and cellulose nanofibrils derived from raw cellulose materials. **International Journal of Polymer Science**, Article ID 7923068, 2018.

XU, C.; NASROLLAHZADEH, M.; SELVA, M.; ISSAABADI, Z. *et al.* Waste-to-wealth: biowaste valorization into valuable bio(nano) materials. **Chemical Society Reviews**, 48, n. 18, p. 4791-4822, 2019.

YANG, H.; KUBICKI, J. D. A density functional theory study on the shape of the primary cellulose microfibril in plants: effects of C6 exocyclic group conformation and H-bonding. **Cellulose**, 27, n. 5, p. 2389-2402, 2020.

YOON, L. W.; ANG, T. N.; NGOH, G. C.; CHUA, A. S. M. Regression analysis on ionic liquid pretreatment of sugarcane bagasse and assessment of structural changes. **Biomass and Bioenergy**, 36, p. 160-169, 2012.

ZHANG, K.; SUN, P.; LIU, H.; SHANG, S. *et al.* Extraction and comparison of carboxylated cellulose nanocrystals from bleached sugarcane bagasse pulp using two different oxidation methods. **Carbohydrate Polymers**, 138, p. 237-243, 2016.

ZHOU, Y.; SAITO, T.; BERGSTRÖM, L.; ISOGAI, A. Acid-Free Preparation of Cellulose Nanocrystals by TEMPO Oxidation and Subsequent Cavitation. **Biomacromolecules**, 19, n. 2, p. 633-639, 2018.

ZOGHLAMI, A.; PAËS, G. Lignocellulosic Biomass: Understanding Recalcitrance and Predicting Hydrolysis. **Frontiers in Chemistry**, 7, p. 874, 2019.